

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik  
im Dr. von Haunerschen Kinderspital  
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. sci. nat. Christoph Klein

## **Osteoimmunologie bei Nichtbakterieller Osteitis**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Delila Elisabeth Singh  
aus  
Dachau  
2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

**Berichterstatte**in: PD Dr. med. Annette Jansson

**Mitberichterstatte**r: Prof. Dr. med. Bernhard Heimkes  
Prof. Dr. med. Matthias Pietschmann

**Mitbetreuung durch die**  
**promovierte Mitarbeiterin:** Prof. Dr. med. Susanne Bechthold-Dalla Pozza

**Dekan:** Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hicel

**Tag der mündlichen Prüfung:** 06.06.2019

Ich widme die Arbeit  
meinen Patientinnen und Patienten,  
denen ich während meiner ärztlichen Tätigkeit  
begegnen werde.

## Eidesstattliche Versicherung

Singh, Delila Elisabeth

---

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

### **Osteoimmunologie bei Nichtbakterieller Osteitis**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 30.10.2018

---

Ort, Datum

Delila Elisabeth Singh

---

Unterschrift Doktorandin/Doktorand

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	7
1.1 Definition NBO .....	7
1.2 Synonyme.....	7
1.3 Einteilung der Osteitiden .....	7
1.3.1 Infektiöse Osteomyelitiden .....	7
1.3.2 Hämatogene Osteomyelitis im Säuglingsalter .....	8
1.3.3 Hämatogene Osteomyelitis im Kindesalter .....	8
1.3.4 Hämatogene Osteomyelitis im Erwachsenenalter .....	9
1.3.5 Posttraumatische und postoperative Osteitis.....	9
1.3.6 Nichtbakterielle Osteitis .....	10
1.3.6.1 Differenzialdiagnosen der NBO .....	10
1.3.6.2 Epidemiologie.....	11
1.3.6.3 Ätiologie und Pathogenese .....	11
1.3.6.4 Klinische Symptomatik.....	12
1.3.6.5 Labordiagnostik .....	13
1.3.6.6 Weitere Diagnostik .....	13
1.3.6.7 Therapie .....	17
1.3.6.8 Prognose .....	18
1.4 Physiologie und Pathologie des Knochenstoffwechsels .....	19
1.5 Marker der Knochenformation.....	20
1.5.1 Osteoprotegerin .....	20
1.5.2 Alkalische Phosphatase .....	21
1.6 Marker der Knochenresorption.....	21
1.6.1 Dickkopf-1 .....	21
1.6.2 Cathepsin K .....	22
2. Wissenschaftliche Fragestellung .....	24
3. Patienten und Methoden .....	25
3.1 Studiendesign .....	25
3.2 Probanden .....	25
3.3 Einschlusskriterien.....	26
3.4 Ausschlusskriterien.....	26
3.5 Methoden.....	26
3.5.1 Serumprobengewinnung- und lagerung (Probenmaterial) .....	26
3.5.2 Laborchemische Untersuchung.....	27
Probenlagerung.....	27
3.5.2.1 Testprinzip.....	27
3.5.2.2 Bestimmung von Osteoprotegerin .....	28

3.5.2.3 Bestimmung von Dickkopf - 1 .....	29
3.5.2.4 Bestimmung von Cathepsin K .....	29
3.5.2.5 Ermittlung der Referenzgrenzen .....	30
3.5.2.6 Weitere Laborparameter .....	30
3.6 Statistische Auswertung .....	31
4. Ergebnisse .....	32
4.1 Charakteristika der Patienten .....	32
4.2 Bestimmung von Markern des Knochenmetabolismus .....	33
4.2.1 Osteoprotegerin .....	33
4.2.2 Alkalische Phosphatase .....	34
4.2.3 Dickkopf-1 (DKK-1) .....	35
4.2.4 Cathepsin K .....	35
4.3 Vergleich der Knochenmarker OPG und DKK-1 anhand ausgewählter Schwerpunkte/Aspekte .....	36
4.3.1 Vergleich der Knochenmarker bei uni- und multifokaler Manifestation .....	36
4.3.2 Vergleich der Knochenmarker von Patienten mit und ohne Hyperostose .....	39
4.3.3 Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne axiale und mit axialer Beteiligung .....	41
4.3.4 Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne und mit Wirbelkörperbeteiligung .....	43
4.3.5 Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne und mit erhöhten Serum-TNF- alpha-Werten .....	45
4.3.6 Vergleich der Knochenmarker mit Patienten, die zu einem späteren Zeitpunkt Pamidronat oder ein Biologikum erhielten .....	47
5. Diskussion .....	50
6. Zusammenfassung .....	58
7. Abkürzungsverzeichnis .....	60
8. Abbildungsverzeichnis .....	62
9. Tabellenverzeichnis .....	62
10. Literaturverzeichnis .....	63
11. Anhang Tabellen .....	69
12. Teilaspekte der Dissertation wurden bereits in Abstracts bzw. Postern publiziert .....	72
13. Danksagung .....	73

## **1. Einleitung**

### **1.1 Definition NBO**

Die Nichtbakterielle Osteitis (NBO) wird zu den Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises gezählt und gilt als Ausschlussdiagnose [1]. Es liegt eine knöcherne Entzündung vor, in der keine Erreger nachgewiesen werden können und die an jedem skelettalen Körperteil auftreten kann [2]. Das entzündliche Geschehen kann das Knochenmark (Osteomyelitis), die Kompakta und das Periost (Osteitis) betreffen [1].

### **1.2 Synonyme**

In der Literatur werden Erkrankungen, die ursächlich mit sterilen Knochen- oder Knochenmarkentzündungen einhergehen, mit verschiedenen Begriffen beschrieben. Erstmals wurde das Krankheitsbild 1972 erwähnt. Giedion et. al nannten es subakute, chronische symmetrische Osteomyelitis [3]. Sechs Jahre später wurde das Krankheitsbild als chronisch rezidivierende multifokale Osteomyelitis bezeichnet [4]. Weitere Begriffe, die eine abakterielle Knochenentzündung beschreiben, sind unter anderem die chronische nichtbakterielle Osteitis (CNO), das SAPHO-Syndrom [5], die chronische sklerosierende Osteomyelitis [6], die plasmazelluläre Osteomyelitis, hyperostotische Spondylarthritis, sternokostoklavikuläre Hyperostose, Spondyloarthritis hyperostotica pustulopsoriatica und das Sweet Syndrom [7].

In der Pädiatrie werden die Begriffe CRMO und CNO oft gleichbedeutend verwendet, obwohl eine Multifokalität nicht immer gegeben ist. Bei den Erwachsenen ist der Begriff SAPHO-Syndrom etablierter. Derzeit ist in der Literatur unklar, ob das SAPHO-Syndrom und die CRMO/CNO die gleiche Krankheit in unterschiedlichen Altersgruppen beschreiben, oder ob sie ein unterschiedliches Ende des Krankheitsspektrums darstellen [5]. Allerdings beinhaltet das SAPHO-Syndrom – ein heterogener Symptomkomplex – laut Definition nicht zwingend eine Osteitis, so dass hier eine Abgrenzung notwendig erscheint [8].

## **1.3 Einteilung der Osteitiden**

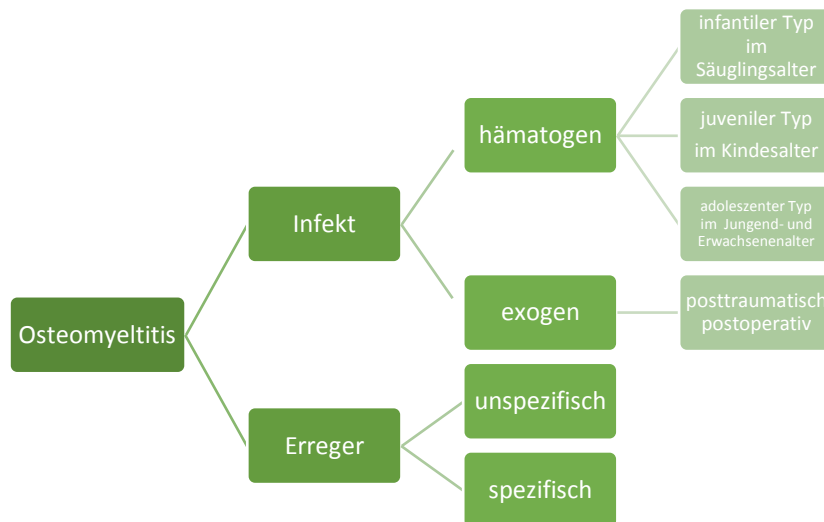
### **1.3.1 Infektiöse Osteomyelitiden**

Infektiöse Knochenentzündungen werden meistens durch Bakterien, Mykosen oder Parasiten hervorgerufen [9]. *Staphylococcus aureus* ist in allen Altersgruppen der häufigste Erreger [10].

Nach der Leitlinie der Gesellschaft für Kinderchirurgie wird die Osteomyelitis ätiologisch wie folgt unterteilt [11]:

→ Nach Art der Infektion: hämatogen oder exogen durch Verletzung

→ Erreger unspezifisch, spezifisch



**Abbildung 1** Einteilung der infektiösen Osteomyelitiden modifiziert nach der Leitlinie für Kinderchirurgie, modifiziert nach [11]

Die akute hämatogene Osteomyelitis lässt sich in drei Untergruppen aufteilen.

### 1.3.2 Hämatogene Osteomyelitis im Säuglingsalter

Die eitrige Osteomyelitis tritt in den ersten 12 Lebensmonaten auf. Streptokokken werden gefolgt von Staphylokokken und Pneumokokken nachgewiesen. Aufgrund von gemeinsamer Gefäßversorgung von Metaphyse und Epiphyse ist eine Mitbeteiligung der benachbarten Gelenke möglich. Häufig geht ein Infekt der oberen Atemwege oder eine Entzündung der Nabelschnur dem Geschehen voraus. Die Erkrankung verläuft nicht immer akut und mit hohem Fieber. Klinische Symptome wie Schwellung, Rötung, Überwärmung, Schonhaltung und Schmerzen des betroffenen Areals treten erst bei einer längeren Krankheitsdauer auf [12]. Neugeborene können eine Pseudoparalyse aufweisen. Die Hälfte der Säuglinge weist kein Fieber auf und ist primär in einem guten Gesundheitszustand [10].

### 1.3.3 Hämatogene Osteomyelitis im Kindesalter

Sie tritt gehäuft zwischen dem 7. - 9. Lebensjahr auf [12]. *Staphylococcus aureus*, Streptokokken und *Pseudomonas aeruginosa* sind häufige Erreger in diesem Alter [10]. Auch hier ist meist in der Anamnese eine allgemeine Infektion zu finden. Ebenso ähneln die klinischen Symptome der OM im Säuglingsalter. Allerdings kann ein schleichender Beginn die Diagnosestellung erschweren. Epiphyse und Metaphyse werden getrennt durch Gefäße versorgt, so findet sich der infektiöse Herd meist im Markraum des Knochens. Trotzdem können Gelenke mitbetroffen sein.



### 1.3.4 Hämatogene Osteomyelitis im Erwachsenenalter

Die insgesamt selten vorkommende OM wird am häufigsten durch *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* und *Haemophilus influenzae* ausgelöst. Auch hier sind in der Vorgeschichte, häufig Infekte zu finden [12]. Die Gefäßversorgung der Knochenkompartimente verläuft jetzt wieder vereint, sodass eine Gelenkbeteiligung gehäuft auftritt [11]. Auch eine Infektion der Wirbelkörper kann ebenfalls auftreten [12].

Die Therapie der akuten hämatogenen OM erfolgt durch eine möglichst frühe Therapie mit Antibiotika. Eine operative Sanierung ist bei der Bildung von Abszessen, Fisteln, Knochennekrosen und Sequesterbildung notwendig [7].

### 1.3.5 Posttraumatische und postoperative Osteitis

Exogen können den Knochen Keime besiedeln, wie dies nach Operationen, offenen Frakturen, Schädigung des Weichteilgewebes und Gelenkprothesen vorkommen kann. Der Schweregrad der Infektion wird durch eine schlechte Vaskularisation, eine starke Virulenz des Erregers, Begleiterkrankungen, immunsuppressive Medikamente und einer inadäquaten posttraumatischen Versorgung begünstigt. Die klinische Symptomatik variiert von Wundheilungsstörungen bis zu ausgeprägter Allgemeinsymptomatik, Abszessbildung und weiteren Komplikationen wie Pseudarthrose und Rezidiven. Klinische und laborchemische Entzündungszeichen lassen sich im Verlauf nachweisen.

Die Therapie besteht in der operativen Ausräumung und einer antimikrobiellen Therapie [12]. Als **unspezifische Erreger** gelten Staphylokokken, Streptokokken, Salmonellen, Proteus, Klebsiella und Pseudomonas.

**Spezifisch** sind die Erreger der Tuberkulose, Syphilis, der Mykosen und der Brucellose [11].

### 1.3.6 Nichtbakterielle Osteitis

Die nichtbakterielle Osteitis wird unterteilt in die akute nichtbakterielle Osteitis (ANBO), die chronisch nichtbakterielle Osteitis (CNO) und die chronisch rekurrende multifokale Osteitis (CRMO) [13].

Verlaufsform	Symptomatik
<b>ANBO</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Mindestens eine Knochenläsion</li><li>- Symptombdauer &lt; 6 Monate</li></ul>
<b>CNO</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Mindestens eine Knochenläsion</li><li>- Symptombdauer &gt; 6 Monate</li><li>- persistierende Symptome</li></ul>
<b>CRMO</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- multiple Knochenläsionen</li><li>- wiederkehrende Schübe mit Remissionen oder</li><li>- eine Knochenläsion mit palmoplantarer Pustulose</li></ul>

**Tabelle 1** Verlaufsformen der Nichtbakteriellen Osteitis, modifiziert nach [13]

#### 1.3.6.1 Differenzialdiagnosen der NBO

Eine der bedeutendsten Differentialdiagnosen ist die bakterielle Osteomyelitis [14].

Weiterhin abzugrenzen sind maligne Erkrankungen wie das Osteosarkom, Ewing-Sarkom, Neuroblastom, Rhabdomyosarkom, die Leukämie und Langerhanszell-Histiozytose.

Differentialdiagnostisch an benignen Erkrankungen und knöchernen Läsionen ist an das Osteoid-Osteom und das Osteoblastom zu denken.

Die Differentialdiagnose umfasst noch weitere Krankheitsbilder wie Knochenhämatome, Frakturen, Osteonekrosen, Osteoporose [15], das Schnitzler-Syndrom [16], die Tuberkulose [17] und die juvenile idiopathische Arthritis [18].

Einige hereditär bedingte Erkrankungen können mit einer nichtbakteriellen Osteitis einhergehen. Bei der Hypophosphatasie, einer verminderten bis fehlenden Aktivität der alkalischen Phosphatase, liegt eine Knochenmineralisationsstörung vor, bei der nichtbakterielle Osteitiden zusätzlich auftreten können [8]. Auch sind weitere Erkrankungen des autoinflammatorischen Formenkreises zu berücksichtigen, insbesondere das autosomal-rezessiv vererbte Majeed Syndrom. Es weist eine CRMO, eine kongenitale dyserythropoetische Anämie und eine inflammatorisch bedingte Dermatoe auf. Das ebenso autosomal-rezessiv bedingte DIRA-Syndrom wird durch eine Mutation des IL1RN-Gen ausgelöst. Dadurch kann das Interleukin-1-Rezeptor – Antagonist Protein nicht gebildet werden, wodurch die proinflammatorischen Zytokine IL-1 und IL-1 $\beta$  nicht inhibiert werden können. Es kommt zu einer multifokalen Osteomyelitis, Periostitis und Pustulose [19].

Das SAPHO-Syndrom, weist mit einem Teil seiner Symptome Parallelen zur NBO auf. SAPHO steht für Synovitis, Akne, Pustulose, Hyperostose und Osteitis. Zur Diagnosestellung

müssen nicht unbedingt alle Symptome gleichzeitig vorliegen, sodass die Osteitis auch fehlen kann. Einige Autoren bezeichnen die CRMO als juvenile Variante des SAPHO-Syndroms [8].

#### **1.3.6.2 Epidemiologie**

Die NBO tritt weltweit auf, ist jedoch bei Patienten europäischer Abstammung am häufigsten beschrieben [20]. Sie wird mit einer Inzidenz von 0,4/100000 angegeben [21] und in den letzten Jahren zunehmend häufiger diagnostiziert. Mädchen erkranken 2-mal häufiger als Jungen. Die Erstmanifestation beginnt bei 80-90% der Patienten vor der Volljährigkeit [22], mit einem Erkrankungsgipfel zwischen dem 7. und 12. Lebensjahr [23]. Die NBO ist derzeit vorwiegend eine Diagnose des Kindesalters. Beschrieben werden Erkrankungen im Alter von 5 Monaten bis 55 Jahren [20]. Klimatische Einflüsse auf die Erkrankung sind nicht bekannt [24].

#### **1.3.6.3 Ätiologie und Pathogenese**

Die NBO ist eine Ausschlussdiagnose. Ihre Pathogenese ist nur wenig verstanden. Da bei der NBO keine exogenen Auslöser und speziellen Autoantikörper nachgewiesen werden können, wird sie als autoinflammatorische Erkrankung betrachtet, also eine Erkrankung des angeborenen Immunsystems [8].

Immunologisch zeigen sich keine Auffälligkeiten der mononukleären Zellen, der T-Zellpopulationen, Phagozyten und der Neutrophilen [25].

Eine Münchner Studie wies bei 30% der Probanden einen unspezifisch erhöhten ANA-Titer auf. Der Nachweis von HLA-B-27 glich mit 7% der Normalbevölkerung, ebenso das Humane Leukozyten-Antigen DRL bei 49 %. IgA, IgM und der RF und die Komplementfaktoren C3 und C4 lagen im Normbereich. Das Serum IgG war bei 15% der Patienten erhöht. TNF-alpha im Serum war bei allen Patienten mit ANBO erhöht, bei 66 % der Patienten mit CRMO und bei 52 % mit CNBO [26].

Ein durch Bakterien ausgelöster Entzündungsprozess kann in Einzelfällen nicht ausgeschlossen werden. In einigen Fällen wurde *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* oder *Mycoplasma hominis* nachgewiesen [27]. Es wird angenommen, dass diese Keime eine immunologische Entzündung im Knochen auslösen könnten [28]. Auch eine Impfung wurde als Auslöser beschrieben [29].

Eine genetische Prädisposition wird in Fällen mit betroffenen Geschwistern, Eltern und konkordanten monozygoten Zwillingen postuliert. Viele Patienten haben Familienmitglieder ersten oder zweiten Grades, die chronisch entzündliche Erkrankungen, meist eine Psoriasis

aufweisen. Auch nahe Verwandte mit Autoimmunerkrankungen in der Anamnese sind gefunden worden [30].

Untersuchungen zeigen, dass sich erbliche Faktoren an der Ätiologie und Pathogenese der Erkrankung beteiligen können. Byrd et. al beschrieben eine cmo-Maus, deren Anomalien der menschlichen CRMO ähneln. Durch eine zufällige autosomale rezessive Mutation auf dem Chromosom 18 traten die Symptome auf. Das auslösende Gen ist aber noch nicht bekannt [31].

Eine andere Forschergruppe fand eine Assoziation der CRMO mit dem seltenen Allelmarker D18S60 auf Chromosom 18, der bei 1/3 der Patienten vorlag. Das weist auf ein Gen in dieser Region hin, das maßgebend zur Ätiologie der CRMO beiträgt und gleichzeitig unterstützt es die Hypothese einer genetischen Basis der CRMO [32].

#### **1.3.6.4 Klinische Symptomatik**

Das durch lokale Schmerzen, Schwellung und Überwärmung gekennzeichnete Krankheitsbild, kann mitunter durch subfebrile Temperaturen bei Erstmanifestation begleitet sein. Allerdings ist nicht klar, ob hier interkurrente Infekte im Kindesalter eine Rolle spielen. Das Allgemeinbefinden ist gut [33], dennoch geben einige Patienten ein schmerzbedingtes Krankheitsgefühl/Unwohlsein und Abgeschlagenheit an [30]. Schmerzen charakterisieren sich als schwerwiegend, stark, dumpf und intensivieren sich durch Bewegung/Belastung [13]. Auch klinisch stumme Läsionen können auftreten, die erst durch bildgebende Verfahren erkenntlich werden [20].

Eine unifokale Manifestation kann in eine multifokale Ausbreitung übergehen [34]. Häufig betroffen sind die Metaphysen der langen Röhrenknochen, die Clavicula, die Wirbelsäule und das Becken. Die Erkrankung kann sich jedoch an allen Knochen manifestieren. Beschrieben werden bis zu 18 Herde [35], wobei durchschnittlich 3 Herde im Verlauf auftreten [36].

Läsionen der unteren Extremität kommen dreimal häufiger vor als an der oberen Extremität. Am häufigsten ist die Tibia betroffen [20]. Gelenknahe Läsionen können mit einer Arthritis einhergehen, aber auch periphere Arthritiden treten auf [30].

25-40 % der Patienten weisen einen symmetrischen Befall auf. Oft zeigt sich ein chronischer Verlauf, der schubweise oder chronisch-persistierend sein kann. [35]. Im Median dauert die Erkrankung zwei Jahre, sie kann aber über Jahrzehnte persistieren [36].

Kinder mit unifokaler und multifokaler NBO weisen keine Unterschiede in der klinischen Symptomatik auf. Patienten mit Wirbelsäulenläsionen weisen durchschnittlich insgesamt mehr Läsionen auf als Patienten ohne Wirbelkörperläsionen [21].

Durchschnittlich wird eine NBO erst 6-9 Monate nach Beschwerdebeginn diagnostiziert [37].

Die NBO kann mit Hauterkrankungen wie der PPP, der Psoriasis vulgaris oder schweren Akne vulgaris assoziiert sein. Auch ein Auftreten mit einem Pyoderma gangraenosum [30], einer Fibromatose [38] und dem Sweet-Syndrom [39] sind bekannt.

Als weitere extraossär assoziierte Erkrankungen sind chronisch entzündliche Darmerkrankungen wie Morbus Crohn [40] und Colitis ulcerosa [41], die kongenitale dyserythropoetische Anämie [39], die Zöliakie [26] und das Auftreten einer parenchymalen Lungenbeteiligung beschrieben [42].

Weiterhin wurden Verläufe mit juveniler idiopathischer Arthritis [43], Still-Syndrom [44], Takayasu-Arteritis, Granulomatose mit Polyangiitis [30], sklerosierender Cholangitis, Enchondrom - Ollier-Syndrom [38] und dem Familiären Mittelmeerfieber [45] beobachtet.

Extraossäre Manifestationen, wie PPP, Psoriasis, Pyoderma gangraenosum und das Sweet Syndrom kommen bei insgesamt 25 % der Patienten mit CRMO vor [35].

In einer Untersuchung wiesen Patienten mit zusätzlichen Autoimmunerkrankungen eine höhere Anzahl an lokalen Knochenläsionen auf. Sie betrafen vor allem die Füße, Tibia, Becken und den Humerus. Zudem waren ein aggressiver Verlauf und eine höhere BKS erkenntlich [46].

Bei 20% der Patienten mit einem langjährigen Krankheitsverlauf und häufigen Rezidiven kann es zu Komplikationen und Defektheilungen kommen [33]. Es treten Skelettdeformitäten, wie unterschiedliches Längenwachstum der Beine, frühzeitiger Schluss der Epiphysenfuge, Hyperostosen, Deformitäten der Brustwirbelsäule wie Kyphose und Skoliose [47], Wirbelkörpereinbrüche und Valgusstellung der Knie auf. Schwierigkeiten des Kauvorgangs bei Kieferbeteiligung, persistierende Muskelatrophie, Thoracic - outlet - Syndrom, persistierende Arthritis [30], Rückenmarkskompression [48] und Einschränkungen des Bewegungsumfangs bei Beteiligung benachbarter Gelenke [49] sind weitere Komplikationen.

#### **1.3.6.5 Labordiagnostik**

Laborchemisch können die BKS und das CRP moderat erhöht sein. Keine Auffälligkeiten zeigt das Differentialblutbild. Bei 20 % der Erkrankten ist das Serum IgG als Zeichen chronischer Inflammation erhöht. Eine geringe Erhöhung der ANA sind unspezifisch [50].

Die Entzündungsmarker CRP und BKS waren öfter bei Kindern mit Fieber oder Appetitlosigkeit erhöht [21]. BKS, Leukozyten und Ferritin zeigen keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Verlaufsformen [51]. Die Anzahl der Läsionen hat keine Auswirkung auf die Entzündungsparameter [52].

#### **1.3.6.6 Weitere Diagnostik**

Die Diagnose „CRMO“ sollte durch ein interdisziplinäres Team in Kooperation mit (pädiatrischen) Rheumatologen, Infektiologen, Onkologen, Orthopäden, und Pathologen gestellt werden [27].

## Diagnosekriterien

Die Arbeitsgruppe Jansson et. al postulierten vier Major-Kriterien und sechs Minor-Kriterien. Liegen zwei Major-Kriterien oder ein Major-Kriterium und drei Minor-Kriterien vor ist die Diagnose CRMO bestätigt [26].

Hauptkriterien	Nebenkriterien
1) radiologisch nachgewiesene osteolytische bzw. sklerotische Läsionen	1) normwertiges Blutbild, gutes Allgemeinbefinden
2) multifokale Knochenläsionen	2) CRP und BKS mild bis moderat erhöht
3) PPP oder Psoriasis	3) Krankheitsverlauf länger als 6 Monate
4) sterile Knochenbiopsie mit Entzündungszeichen und / oder Fibrose, Sklerose	4) Hyperostose
	5) Assoziation mit anderen Autoimmunerkrankungen abgesehen von PPP oder Psoriasis
	6) Verwandte ersten oder zweiten Grades mit autoimmunen oder autoinflammatorischen Erkrankungen, oder mit NBO

**Tabelle 2** Diagnosescore, Haupt- und Nebenkriterien der NBO, modifiziert nach [26]

## Klinischer Score

Jansson et. al entwickelten ebenso einen rechnerisch validierten Diagnosescore um die NBO von anderen Erkrankungen mit Knochenläsionen zu differenzieren. Der Score erleichtert den Prozess der Diagnosefindung bei Patienten mit zweifelhafter Diagnose. Zudem sollen überflüssige und unnötige invasive diagnostische und therapeutische Maßnahmen verhindert werden. Der Score besteht aus 7 Parametern, die sich auf Laborwerte, Temperatur und radiologische Diagnostik beziehen. Werte zwischen 0 und 63 können erreicht werden. Zwischen 0-28 Punkten ist das Vorliegen einer NBO wenig wahrscheinlich. Zwischen 29-38 Punkten ist die Diagnose unsicher. Mehr als 39 Punkte weisen auf eine NBO hin [53].

Parameter	Erreichbare Punkte
Normwertiges Blutbild	13
Symmetrische Läsionen	10
Läsionen mit Randsklerose	10
Normale Körpertemperatur	9
Vertebrale, klavikuläre oder sternale Läsionen	8
Radiologisch nachgewiesene Läsionen $\geq 2$	7
CRP $\geq 1$ mg/dl	6
<b>Erreichbare Punkte</b>	<b>63</b>

**Tabelle 3** Klinischer Diagnosescore, modifiziert nach [53]

### Histologie und mikrobielle Testung

Die Diagnose der CRMO kann nicht aufgrund der Histologie gestellt werden. Sie beruht auf der klinischen Präsentation. Die röntgenologische Bildgebung kann zur Sicherung der Diagnose beitragen. Mit einer Biopsie lassen sich maligne Erkrankungen, die bakterielle Osteomyelitis und die avaskuläre, aseptische Knochennekrose ausschließen. Der histologische Befund muss nicht mit der Dauer der klinischen Symptome korrelieren [27].

Eine Biopsie sollte bei unklarer Befundkonstellation durchgeführt werden. Bei einer einzelnen Läsion mit osteolytischen Veränderungen wird eine Biopsie dringend empfohlen [24].

Das Ganzkörper-MRT mit STIR-Sequenzen hilft bei der Auswahl der besten Lokalisation für eine Biopsie, falls sie benötigt wird [47].

Histopathologisch charakteristisch für Läsionen ist im akuten Entzündungsprozess eine Ansammlung von polymorphkernigen Leukozyten im Knochenmark, meist vom Neutrophilen Typ. Auch Eosinophile können vorkommen. Vereinzelt kann man Abszesse sehen, um die sich Lymphozyten ansammeln. Ein vermehrtes Auftreten von Osteoklasten und Zeichen der Knochenresorption waren in akuten Läsionen bereits sichtbar.

In chronischen Läsionen überwiegen die Lymphozyten. Zusätzlich konnten Plasmazellen, Histiocyten und einige polymorphkernige Leukozyten gesichtet werden.

Einige Biopsate weisen granulomatöse Herde mit vielen Neutrophilen im Zentrum des Knochenmarks auf. Auch mehrkernige Riesenzellen, nekrotische Knochenfragmente und in langandauernden Läsionen eine Fibrose um die Entzündungsherd können vorkommen [54].

Immunhistochemisch sind überwiegend CD3(+), CD45RO(+) T-Zellen, vorwiegend CD8(+). Nachweisen lassen sich auch reichlich CD20(+) B-Zellen und CD68(+) Makrophagen, selten CD56(+), NK-Zellen und S-100(+) dendritische Zellen.

Im histologischen Bild kann nicht zwischen NBO und bakterieller Osteitis differenziert werden, jedoch sind Abszess-Formationen eher nicht charakteristisch für eine NBO. Deshalb sollte eine mikrobielle Testung der Biopsate mittels PCR und Bakterienkulturen erfolgen. In einigen Fällen werden Bakterien isoliert, insbesondere *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma hominis* oder *Propionibakterium acnes*. Die Bakterien könnten aber aus Kontamination während der Biopsie stammen [27].

### **Bildgebende Verfahren**

Zur radiologischen Beurteilung sollten symptomatische Stellen zuerst geröntgt werden [20], sofern die Lokalisation konventionell-radiologischer Diagnostik zugänglich ist. Zu Erkrankungsbeginn sind radiologische Veränderungen nur dezent oder noch nicht zu erkennen [55]. Erst 2-3 Wochen nach Krankheitsbeginn sind röntgenologisch Pathologien ersichtlich [14].

Röntgenbilder veranschaulichen im frühen Krankheitsstadium osteolytische Läsionen. Ein längerer Krankheitsverlauf zeichnet sich durch eine Sklerose um lytische Läsionen, sodass schließlich im chronischen Verlauf Sklerose und in einigen Fällen Hyperostosen vorherrschen. Zeigen die Röntgenbilder keine Veränderungen, wird ein MRT in Erwägung gezogen [20].

Die Ganzkörper – MRT – Untersuchung ist von großer Bedeutung in der Feststellung einer Vielzahl von multifokalen Veränderungen des Skeletts und auch malignen Erkrankungen. Es deckt klinisch stumme Knochenherde und eine Beteiligung des Weichteilgewebes auf. Außerdem ist es in der Verlaufsbeurteilung hilfreich.

Vor allem gut beurteilen lassen sich angrenzende Läsionen der langen Metaphysenknöchen. Sie kommen häufig vor und sind schwierig in der Knochenszintigraphie darstellbar [55].

In der aktiven Krankheitsphase lassen sich in der MRT Knochenmarködeme, in T1-Wichtung hypointens und in T2-Wichtung hyperintens, darstellen [20].

Die Ganzkörper – MRT – Untersuchung hat eine höhere Sensitivität im Erkennen von subradiologischen Läsionen als die Knochenszintigraphie [47]. Außerdem können subklinische oder auch klinisch nicht mehr aktive Wirbelkörperbeteiligungen, Synovitis und Sakroiliitis aufgedeckt werden [52].

Die Ganzkörper-Knochenszintigraphie erlaubt ebenso das frühe Erkennen von unvermuteten und röntgenologisch stummen Knochenläsionen und misst deren metabolische Aktivität. Auch ein multifokaler Befall lässt sich gegebenenfalls darstellen [56]. Aufgrund der Strahlenbelastung, der vergleichsweise mit der MRT-Untersuchung weniger hohen Sensitivität [34] ist sie heute nicht mehr Diagnostik der ersten Wahl. Als Verlaufskontrolle ist



sie nicht geeignet. Aufgrund der unzureichenden Darstellung von Weichteilen und der hohen Strahlenbelastung wird die Computertomographie nicht als gängige Bildgebung durchgeführt. Allerdings kann sie bei schweren Verläufen zur Aufdeckung anatomischer Veränderungen verwendet werden [33].

#### **1.3.6.7 Therapie**

Nach dem Konsensusstatement des 16. Wörlitzer Expertengesprächs 2013 der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendrheumatologie erfolgte die Einteilung in eine fünfstufige Therapie. Der Evidenzgrad aller eingesetzten Therapeutika liegt aufgrund fehlender prospektiver Studien und der kleinen Patientenkollektive bei III-IV. In Stufe I, der Therapie der ersten Wahl, werden anfangs symptomatisch NSAR eingesetzt. Vornehmlich werden Naproxen, Ibuprofen und Indometacin im oberen Bereich der Dosierung verordnet [57]. Indometacin erzielte eine klinische und radiologische Verbesserung der Knochenläsionen nach einer durchschnittlichen Behandlungszeit von 6 Monaten. Außerdem schützt es vor neuen Krankheitsschüben [58].

Reicht der therapeutische Effekt der NSAR nicht aus, werden in Stufe II meist zusätzlich orale Steroide als Kurzzeittherapie appliziert [57]. Nur eine Kasuistik berichtet über Einsatz und Ansprechen einer intravenösen Gabe von Methylprednisolon [59].

DMARDs wie Sulfasalazin und Methotrexat können in Stufe III zum Einsatz kommen.

Als Stufe IV und vor allem bei therapierefraktären und destruierenden Verläufen, sowie bei Wirbelkörperbeteiligung können primär Bisphosphonate infundiert werden [57]. Bisphosphonate sind starke Osteoklasteninhibitoren und weisen antientzündliche und schmerzmodifizierende Effekte auf [60]. Das Verhältnis von pro- und antientzündlichen Zytokinen verändert sich unter der Therapie. TNF - alpha und IL- 6 sinken im Serum ab. Eine Progredienz der Erkrankung kann verhindert werden und radiologische Läsionen verbessern sich [61]. Sie sollten möglichst früh bei vertebraler Beteiligung erwogen werden. Symptomatische Verbesserung, sowie vertebrales Modelling, das heißt Aufrichtung gesinterter Wirbelkörper, lassen sich nachweisen [62]. In Stufe V werden TNF - Antagonisten eingesetzt [57]. Unter ihnen haben sich Etanercept, Adalimumab und Infliximab als wirksam erwiesen [63]. Unter Infliximab wurde kasuistisch bereits nach der ersten Dosis ein Ansprechen gezeigt und nach längerer Anwendung eine Progredienz der Erkrankung verhindert [64]. Der IL-1- Rezeptor-Antagonist Anakinra konnte mit kurzfristigem Erfolg eingesetzt werden [63]. Jedoch liegen zu keiner der medikamentösen Therapien Studien an größeren Kollektiven vor.

Dem Makrolidantibiotikum Azithromycin wurde eine antiphlogistische und immunmodulierende Komponente zugeschrieben. In der Literatur finden sich Fall-Berichte

über ein positives Ansprechen bei NBO [65]. In einer anderen Studie zeigte sich eine antibiotische Therapie als ineffizient [59], auch wurde der Therapie-Effekt von Azithromycin in einer systematischen Untersuchung an einem größeren Kollektiv als temporär gezeigt [66].

Colchizin [45], Interferon gamma [67], Interferon alpha, intravenöse Immunglobuline, Dapson und die hyperbare Sauerstofftherapie werden als weitere Therapiemöglichkeiten beschrieben [15].

In Kasuistiken werden Kombinationstherapien mit MTX, Pamidronat, intraartikulärer Steroidinjektion [41] oder MTX, Etanercept, Naproxen [68] als effektiv beschrieben.

Vor allem Patienten mit multifokalen Knochenläsionen oder anhaltenden Schüben benötigen eine intensivere Behandlung mit weiteren Medikamenten [51].

Als chirurgische Intervention wurden Kürettagen [69] und Teilresektionen [70] der betroffenen Knochen eingesetzt, ohne langfristige Erfolge.

Sie sollten vermieden werden, weil die unangemessene Entfernung großer Knochenareale das spätere Ergebnis verschlechtern könnte [59].

Physiotherapeutische Maßnahmen sollten früh eingesetzt werden, um das Muskelgleichgewicht zu erhalten und möglichen Kontrakturen der betroffenen Regionen präventiv entgegenzuwirken. Auch Übungen zur Verbesserung des Bewegungsumfanges und das Stärken der Muskeln sind wichtig [35].

#### **1.3.6.8 Prognose**

Der Verlauf der NBO ist meist benigne und selbstlimitierend. Teilweise kommt es vor Abschluss der Pubertät klinisch zur Ausheilung [33].

Langfristig haben Kinder generell eine gute Prognose. Der Großteil zeigt soweit bekannt im Verlauf keine Aktivität der Erkrankung oder Folgeschäden. Es können sich aber unerwünschte und nachteilige Auswirkungen in Bereichen der Lebensqualität, der physischen Funktionen und in der schulischen Bildung und Ausbildung entwickeln.

Patienten mit persistierendem Krankheitsverlauf neigen zu einem Risiko für physische und psychische Komplikationen [38].

Prognostisch ungünstig ist ein Erkrankungsbeginn im späteren Alter anzunehmen. Ebenso könnte eine Assoziation mit einer PPP auf einen schwereren Verlauf hindeuten [33].

Eine Studie von Catalano-Pons et. al zeigt, dass Patienten mit einer erhöhten Anzahl an Knochenläsionen ein größeres Risiko für einen persistierenden Krankheitsverlauf haben.

Hier erwiesen sich ein frühes Erkrankungsalter sowie eine höhere Anzahl an Knochenläsionen bei Krankheitsbeginn als ungünstig für den Verlauf. Letzteres steht für ein schlechteres Ansprechen der Therapie mit NSAR [71].

#### **1.4 Physiologie und Pathologie des Knochenstoffwechsels**

Knochen sind ein dynamisches Gewebe, das lebenslangen Umbauprozessen unterliegt. Maßgeblich tragen die Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten dazu bei.

Die knochenaufbauenden Osteoblasten sind mesenchymalen Ursprungs. Als aktive Zellen sind sie auf neugebildeten Knochenoberflächen zu finden. Sie bauen organische Knochenmatrix auf und werden anschließend als Osteozyten im Knochen eingebettet. Sie sind die am häufigsten vorkommenden Zellen im Knochen. Durch ein kanalikuläres Netzwerk sind die Osteozyten an das Blutsystem angeschlossen, fungieren als Mechanosensoren im Knochen und interagieren so mit Osteoblasten und deren Vorläuferzellen.

Die mehrkernigen knochenabbauenden Osteoklasten stammen von hämapoetischen Vorläuferzellen ab. Sie entstehen durch Fusion von makrophagischen Vorläuferzellen. Die Knochenresorption findet in den Howshipschen Lakunen mittels sezernierter Protonen, Chlorid und Proteasen wie Cathepsin K statt.

Die Entwicklung und Differenzierung von Osteoklasten ist durch ein komplexes System reguliert. Eine wesentliche Rolle spielen die durch Osteoblasten gebildeten Monozytenkolonien - stimulierender Faktoren (M-CSF) und RANKL.

RANKL, auch „Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand“ genannt, ist ein Mitglied der TNF-Familie. Er befindet sich auf der Oberfläche von Osteoblastenvorläufern, ebenso auf stromalen Fibroblasten. RANKL bindet an RANK, einen Rezeptor, der auf der Oberfläche von Vorläufer-Osteoklasten exprimiert wird. Der Komplex stimuliert die Differenzierung und Aktivierung der Osteoklasten, die einen Abbau des Knochens auslösen. Diese Zellinteraktion kann durch das Binden von OPG an RANKL verhindert werden. Die Osteoklastendifferenzierung ist somit unterbunden [72] .

Das Verhältnis von RANKL zu OPG (RANKL/OPG-Ratio) [73] bestimmt die Aktivität von RANK [72] und ist ausschlaggebend für Aktivierung der Osteoklasten und dem damit verbundenen Knochenabbau. Im Serum kann lösliches RANKL und OPG nachgewiesen werden [73].

Weitere anfallende Produkte der Osteoblasten und – klasten, sowie dem Kollagenumsatz können bestimmt werden und bei der Diagnose und dem weiteren Vorgehen von Knochenerkrankungen helfen [72].

Knochenerkrankungen wie die rheumatoide Arthritis, Osteoporose, maligne Knochentumoren [73], Hormone, Zytokine, Medikamente und weitere Faktoren beeinflussen das Verhältnis von RANKL/OPG positiv oder negativ in Bezug auf den Knochenstoffwechsel. Die Tabelle Nr. 4 zeigt, welche Faktoren den Knochenabbau hemmen bzw. den Knochenabbau fördern [74].

Hemmen Knochenabbau	Fördern Knochenabbau
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Östrogene</li> <li>- Kalzitinin</li> <li>- Knochenmorphogenetisches Protein 2,4</li> <li>- Transforming Growth Factor-<math>\beta</math></li> <li>- Thyreoperoxidase</li> <li>- Interleukin-17</li> <li>- Platelet-derived growth factor</li> <li>- Kalzium</li> <li>- Inhibin</li> <li>- OPG</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Parathormon</li> <li>- Parathormon – related peptide</li> <li>- Prostaglandin E<sub>2</sub></li> <li>- 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub></li> <li>- Interleukin -1</li> <li>- Interleukin – 6</li> <li>- Tumornekrosefaktor</li> <li>- Prokalzin</li> <li>- Kortikosteroide</li> <li>- Onkostatin M</li> <li>- Leukämie inhibierender Faktor</li> <li>- RANKL</li> </ul>

**Tabelle 4** Faktoren, die den Knochenmetabolismus beeinflussen, modifiziert nach [74]

Verschiedene zugelassene Arzneimittel wie selektive Östrogen-Rezeptor-Modulatoren, Steroide, Anti – TNF – Therapien, Bisphosphonate beeinflussen unter anderem das RANKL/OPG- Verhältnis und haben somit protektive Effekte auf den Knochenstoffwechsel [74].

Seit 2010 ist der monoklonale Antikörper Denosumab als subkutane Therapie zugelassen. Er bindet an RANKL und verhindert die Interaktion mit RANK und somit die Aktivierung der Osteoklasten. Einsatzgebiete sind die postmenopausale Osteoporose und das Prostatakarzinom. Eine geringere Rate an vertebralem und nicht – vertebralem Frakturen lässt sich durch die Anwendung des Antikörpers nachweisen [75].

## 1.5 Marker der Knochenformation

### 1.5.1 Osteoprotegerin

1997 isolierten Wissenschaftler zum ersten Mal OPG bzw. Osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) [76, 77]. Weitere Synonyme wie TNF receptor-related molecule 1 (TR-1) [78], follicular dendritic cell receptor 1 (FDCR-1) [79] und TNF superfamily receptor 11B kamen hinzu. Seit 2000 gilt der Begriff OPG als einheitliche Nomenklatur zu verwenden [80].

Das OPG-Gen ist auf dem Chromosom 8q23-24 lokalisiert [81]. OPG wird synthetisiert von Osteoblasten, Stromazellen, vaskulären glatten Muskelzellen, B-Lymphozyten und artikulären Chondrozyten. Es wird durch den Wnt- Signalweg reguliert [82].

Das sekretierte Glykoprotein OPG gehört zur Familie der Tumornekrose Faktor – Rezeptoren und besteht aus 401 Aminosäuren. Der N-Terminus setzt sich aus vier cysteinreichen Domänen, die an der Inhibition der Osteoklastogenese beteiligt sind, zusammen. An Domäne 1 hängt ein Signalpeptid aus 21 Aminosäuren. Die C-terminale Domäne ist aus zwei homologen „death domains“ mit unbekannter Funktion und einer „heparin – binding“ Domäne aufgebaut. An dessen Ende heftet ein Cysteinrest, der für die Homodimerisation verantwortlich ist [83].

Es liegt als Monomer mit einer Molekülmasse von 60 kDa oder verbunden durch eine Disulfidbrücke als Homodimer mit einem Gewicht von 120 kDa vor [84]. Beide Proteine weisen die gleiche biologische Aktivität auf [85].

Das natürlich vorkommende Protein wirkt der Osteoklastogenese als starker Inhibitor entgegen. OPG agiert als Lockrezeptor und bindet an RANKL und verhindert somit die Interaktion zu RANK [86]. Nachfolgend inhibiert es die Osteoklastogenese, die Osteoklastenaktivität und die Knochenresorption [82].

Bei verschiedenen rheumatischen Erkrankungen wurden veränderte OPG-Werte im Serum gemessen [87-89].

### **1.5.2 Alkalische Phosphatase**

Die Alkalische Phosphatase weist vier Isoformen auf, die aus Glykoproteinen bestehen. Sie ist in allen Körperflüssigkeiten und Geweben zu finden. Hoch aktiv ist die AP vor allem in der Leber und im Knochen. Im Knochen ist sie für die Kalzifikation durch Osteoblasten verantwortlich. Erhöhte Serumwerte weisen auf eine erhöhte Osteoblastenaktivität hin [90].

## **1.6 Marker der Knochenresorption**

### **1.6.1 Dickkopf-1**

Das Glykoprotein DKK-1 ist Mitglied einer Multi-Genfamilie [91] zu der die weiteren Proteine DKK-2, DKK-3 und DKK-4 gehören. Sie bestehen aus 255 – 350 Aminosäuren [92]. Am besten untersucht ist DKK-1, das eine bedeutende Rolle im Knochenstoffwechsel und im Wnt-Signalweg spielt [93].

Die Aktivierung des Wnt-Signalweges erfolgt durch das Wnt-Protein, dessen Korezeptor Frizzled und die Low Density Lipoprotein-Korezeptoren LRP 5/6 einen Komplex bilden, der ein Signal an den Wnt-Weg vermittelt [94]. Dadurch wird die Phosphorylierung von  $\beta$ -Catenin

im Zellplasma verhindert, es transloziert in den Zellkern, wo es die Gentranskription moduliert. Die Proliferation, Differenzierung und das Überleben der Osteoblasten wird begünstigt [82].

DKK-1 ist ein Inhibitor des Wnt-Signalwegs. Um eine Signalweiterleitung des Wnt-Wegs zu verhindern bilden die Rezeptoren der Transmembranproteine Kremen 1 und 2, die eine hohe Affinität für die Dickkopfproteine aufweisen, einen Komplex. Sie binden DKK-1 an LRP 5/6 und inhibieren durch Internalisation und Depletion von LRP 5/6 an der Zelloberfläche die Signalweiterleitung des Wnt-Wegs [91].

Eine Überexpression von DKK-1 beeinträchtigt die Differenzierung und Funktion der Osteoblasten. Zytokine wie TNF regen die Bildung von DKK-1 an und beeinträchtigen die Knochenneubildung bei entzündlichen Prozessen. Entzündliche rheumatische Erkrankungen weisen erhöhte DKK-1 - Werte auf, was die Veränderungen an Knochen und Gelenken widerspiegelt.

Der Einfluss lokaler Knochenresorption basiert auf der Regulation der OPG-Expression durch den Wnt-Weg. Durch DKK-1-Blockade sinken die OPG-Spiegel, destruierende Knochenveränderungen lassen sich vermindern und außerdem wirkt sich der antagonisierende Effekt protektiv auf lokale Knochenläsionen aus [93].

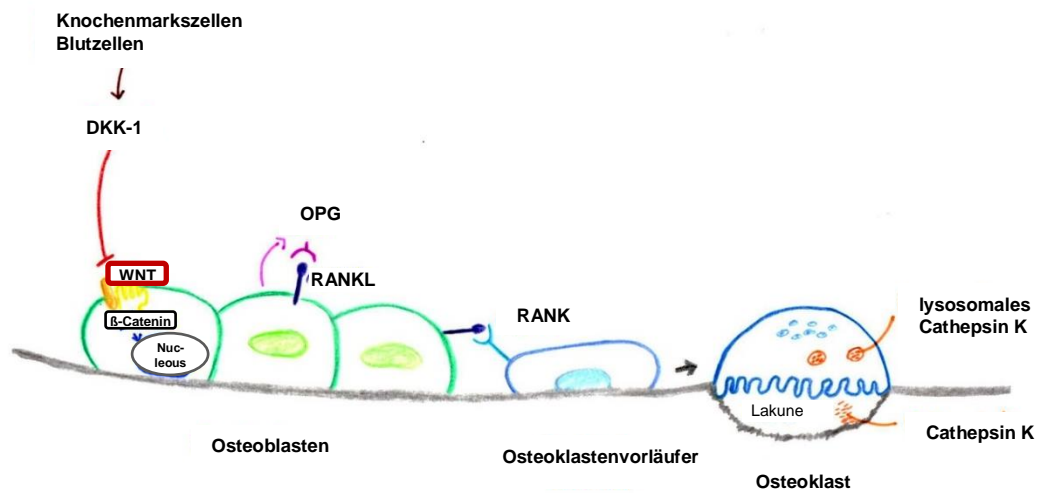
Auch verschiedene maligne Erkrankungen weisen unterschiedliche DKK-1-Spiegel auf [92].

### **1.6.2 Cathepsin K**

Cathepsine sind intrazelluläre, lysosomale Enzyme die zur Familie der Papain-like-Proteasen gehören und am Proteinabbau beteiligt sind [95]. Cathepsin K spielt eine wichtige Rolle im Knochenumbau. Es wird im hohen Maß von aktivierten Osteoklasten exprimiert [96]. Zudem lässt sich im respiratorischen und gastrointestinalen Gewebe, im Endokard und in der Haut Cathepsin K nachweisen.

Die Synthese findet als inaktives glykolisiertes Proenzym im rauen endoplasmatischen Retikulum statt. Es kann unabhängig oder abhängig über den Mannose-6-Phosphatase-Rezeptor-Weg zum Lysosom transportiert werden. Durch andere Cathepsine, Glycosaminoglycane, Autokatalyse und einem sinkenden pH-Wert kann das Propeptid aktiviert werden. Der optimale pH-Wert beträgt 6,0 [95]. Der niedrige pH-Wert und saure Phosphatasen zersetzen die mineralische Knochenmatrix. Danach wird durch Cathepsin K die organische Knochenmatrix aufgelöst. Zerfallsprodukte des Kollagen-Typ I wie das carboxyterminale Kollagen – Typ I – Telopeptid, NTx, CrossLaps, Helical Peptide und Desoxypyridinolin bilden sich.

Aufgrund der Spezifität zum Knochenstoffwechsel sind Cathepsin K und die anfallenden Zerfallsprodukte als Parameter für den Knochenumbau- und abbau geeignet [90].



**Abbildung 2** Interaktionen des Knochenmetabolismus

## **2. Wissenschaftliche Fragestellung**

Das Ziel der Untersuchung war, ob bei dem Krankheitsbild der Nichtbakteriellen Osteitis ein Ungleichgewicht zwischen Markern des Knochenauf- und abbaus vorliegt. Da Osteoklastenhemmer bereits erfolgreich bei NBO eingesetzt wurden [57], ist ein Ungleichgewicht in der Knochenhomöostase anzunehmen. Bislang liegen uns keine bekannten Publikationen zum Knochenstoffwechsel bei NBO vor.

In zahlreichen Studien zu Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises wie der Juvenilen idiopathischen Arthritis [88, 89, 97], Rheumatoiden Arthritis [98, 99], Ankylosierenden Spondylitis [87, 100] und dem SAPHO Syndrom [101], aber auch bei weiteren Knochenerkrankungen wie dem Morbus Paget [102] wurden Störungen des Knochenmetabolismus beschrieben.

Als Marker der Knochenformation wählten wir Osteoprotegerin und die Alkalische Phosphatase, als Marker der Knochenresorption Dickkopf-1 und Cathepsin K.

Durch unsere Untersuchung sollen genauere Erkenntnisse über die Pathomechanismen der Knochenhomöostase bei NBO gewonnen werden. Zudem sollten sich eventuell neue diagnostische, sowie therapeutische Ansätze gewinnen lassen.

### **Folgende Schwerpunkte wurden genauer untersucht:**

- Gibt es Veränderungen der Knochenmarker Osteoprotegerin, Alkalische Phosphatase, Dickkopf-1 und Cathepsin K im Serum bei Patienten mit NBO im Vergleich zu Normwerten aus der Literatur?

### *Weiterer Vergleich der Knochenmarker OPG und DKK-1 im Serum anhand ausgewählter Schwerpunkte/Aspekte*

- Vergleich der Knochenmarker bei uni- und multifokaler Manifestation
- Vergleich der Knochenmarker von Patienten mit und ohne Hyperostose
- Vergleich der Knochenmarker von Patienten mit axialer und nicht axialer Beteiligung
- Vergleich der Knochenmarker von Patienten mit und ohne Wirbelsäulenbeteiligung
- Vergleich der Knochenmarker von Patienten mit normwertigem und erhöhtem TNF-alpha im Serum
- Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne Therapieeskalation und Patienten mit Therapieeskalation (Pamidronat oder Etanercept) im späteren Krankheitsverlauf



### **3. Patienten und Methoden**

#### **3.1 Studiendesign**

Es handelt sich bei der vorliegenden wissenschaftlichen Arbeit um eine retrospektive Studie, die von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der LMU München (Projekt – Nummer 516-12) mit einem positiven Votum genehmigt wurde. Die Patienten, bei Minderjährigen auch die Erziehungsberechtigten, wurden schriftlich über die Studie, den Ablauf und deren Ziele aufgeklärt. Von allen Probanden lag eine schriftliche Einverständniserklärung vor, bei Minderjährigen zusätzlich von den Eltern.

Die Durchführung der Untersuchung fand an der Kinderklinik und Kinderpoliklinik der LMU München im Dr. von Haunerschen Kinderspital in der Kinder- und Jugendrheumatologie (Leitung: PD Dr. Annette Jansson), und der endokrinologischen Abteilung (Prof. Dr. Susanne Bechtold-Dalla Pozza) statt. Die Laboruntersuchungen wurden im endokrinologischen Labor (Leitung: Prof. Dr. H. Schmidt) durch Frau Amalie Busch durchgeführt.

Die benötigten Daten für die Untersuchung stammten aus den Patientenakten und dem klinikinternen EDV-System. Grundlage waren Anamnesebögen, Untersuchungsbefunde, Laborberichte und Befunde der radiologischen Bildgebung. Folgende Daten wurden entnommen: Geburtsdatum, Geschlecht, Vorerkrankungen, Manifestationsalter, klinische Symptome, Laborwerte, radiologische Befunde, Diagnose, Medikamente/Therapieform.

#### **3.2 Probanden**

Es nahmen 55 Patienten an der Untersuchung teil. Alle Patienten waren aufgrund einer Nichtbakteriellen Osteitis in der Ambulanz für Kinder- und Jugendrheumatologie in der Dr. von Haunerschen Kinderklinik in Behandlung.

Die Einteilung in die Schwerpunktgruppen erfolgte anhand der vorliegenden Befunde aus den Patientenakten und dem klinikinternen EDV-System. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme lagen von 15 Patienten ein Ganzkörper-MRT und von 9 Patienten eine Ganzkörper-Szintigraphie vor. Die radiologische Bildgebung wurde im Zeitraum von 30 Tagen vor oder nach der Blutentnahme vorgenommen.

Um eine Aussage über die Krankheitsaktivität bei den Patienten zu treffen, wurden klinische Symptome und laborchemische Entzündungsparameter betrachtet.

Als „klinisch aktiv“ wurde ein lokal objektivierbares Entzündungsgeschehen in Form von Schwellung und Überwärmung gewertet. Patienten, die als Symptom nur Schmerzen aufwiesen, wurden nicht in die Wertung „klinisch aktiv“ miteinbezogen, wenn retrospektiv nicht eindeutig zu bestimmen war, ob die dokumentierten Schmerzen entzündungsbedingt,

als Folge einer Schonhaltung oder eines Sekundären Schmerzverstärkungssyndrom auftraten.

Bei „humoral aktiv“ musste mindestens ein Entzündungsparameter wie das CRP, die BKS, das SAA oder Serum-TNF-alpha ohne sonstige Infektzeichen erhöht sein.

Patienten mit axialer Beteiligung wiesen radiologisch mindestens eine Läsion im Bereich des Beckens oder der Wirbelsäule auf. Bei der Einteilung „mit Wirbelkörperbeteiligung“ war mindestens eine Läsion eines Wirbelkörpers vorhanden.

### **3.3 Einschlusskriterien**

1. Im Rahmen der Ausschlussdiagnostik wurden Patienten mit einer Nichtbakteriellen Osteitis eingeschlossen.
2. Die Erstmanifestation der Erkrankung lag < 18 Jahre.
3. Die Vorlage eines unterschriebenen, schriftlichen Einverständnisses über die Teilnahme an der Studie. Bei Minderjährigen musste zusätzlich die schriftliche Einwilligung der Eltern vorliegen.

### **3.4 Ausschlusskriterien**

1. Patienten mit kongenitalen oder erworbenen Begleiterkrankungen, die den Knochen- und Mineralhaushalt beeinflussen oder zeitlich naheliegende Knochenbrüche aufwiesen.
2. Patienten mit Malignomen, kardiopulmonalen, hämatologischen, renalen, endokrinologischen, gastroenteralen oder anderen immunologischen Erkrankungen.
3. Erkrankungen, die die Entzündungsparameter beeinflussen, wie z.B. Infektionen.
4. Die Einnahme von Steroiden.
5. Probandinnen, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme eine Schwangerschaft aufwiesen.

## **3. 5 Methoden**

### **3.5.1 Serumprobengewinnung- und lagerung (Probenmaterial)**

Entsprechend dem Studienprotokoll waren den Probanden bei einer Routineblutentnahme altersentsprechend maximal 5 ml Vollblut durch Punktion einer Vene, zusätzlich abgenommen worden. Die Blutentnahmen wurden mit dem Monovettensystem der Firma Sarstedt durchgeführt. Im klinikeigenen immunologischen Labor folgte nach Gerinnung des Blutes, eine Zentrifugierung bei 4000 Rotationen pro Minute für 10 Minuten. Das Serum wurde abpipettiert und bei -23° C bis zur Untersuchung eingelagert. Ein Teil des

verwendeten Plasmas stammte von Resten früherer Blutentnahmen und wurde in einem Kühlraum im Münchner Max von Pettenkofer Institut, bei – 20° C aufbewahrt.

### 3.5.2 Laborchemische Untersuchung

Die Bestimmung der Knochenstoffwechselfparameter OPG, DKK-1 und Cathepsin K erfolgte im endokrinologischen Labor (Leitung: Prof. Dr. med. H. Schmidt) des Dr. von Haunerschen Kinderspital der LMU München. Die Bestimmungskits stammten von der Firma Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Wien.

ELISA	Typ, Markierung	Detektionsgrenze	Hersteller
<b>OPG (BI-20403)</b>	Monoklonaler Maus anti OPG Antikörper, biotinyliert	(0 pmol/l + 3 SD): 0,7 pmol/l	Biomedica, Wien
<b>DKK-1 (BI-20412)</b>	Humaner Anti DKK-1- Antikörper, biotinyliert	(0 pmol/l + 3 SD): 0,38 pmol/l	Biomedica, Wien
<b>Cathepsin K (BI-20432)</b>	Polyklonaler Schaf anti Cathepsin K Antikörper	1,1 pmol/l	Biomedica, Wien

**Tabelle 5** Charakteristika der verwendeten Antikörper zur Bestimmung von OPG, DKK-1, Cathepsin K

Die Bestandteile und Arbeitsschritte der Tests sind auf das jeweilige Anleitungsheft der Firma bezogen, insofern keine Referenzen explizit angegeben wurden.

### Probenlagerung

Die Reagenzien und Kits wurden bis zur Verwendung bei 4° C gelagert. Vor dem Testbeginn wurden die gefrorenen Plasmaproben und Reagenzien auf Zimmertemperatur gebracht. Um die Genauigkeit zu erhöhen, wurden alle Werte doppelt bestimmt.

#### 3.5.2.1 Testprinzip

Die Knochenmarker OPG, DKK-1 und Cathepsin K wurden mittels Sandwich - ELISA-Verfahren gemessen. Das Prinzip dieser Methode besteht darin, Antigene oder Antikörper nachzuweisen.

Zuerst wird das Antigen, in unserem Fall das Serum, in die Mikrotiterplatte gegeben, in der sich bereits ein Antikörper befindet. Das Antigen bindet den Antikörper. Ein weiterer enzymgekoppelter Antikörper wird zur Detektion hinzugegeben und bindet an das Antigen. Es bildet sich ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex. Es kommt zu einer Reaktion mit Farbumschlag, die dann gemessen wird [103].

### **3.5.2.2 Bestimmung von Osteoprotegerin**

#### Bestandteile des Tests

- Mikrotiterplattenstreifen mit polyklonaler Ziege anti OPG Antikörper
- 50 ml Waschpuffer, 20 - fach Konzentrat
- 7 ml monoklonaler Maus anti OPG Antikörper – biotinyliert
- 6 x 300 µl gebrauchsfertige Standards 1-6
- 300 µl gebrauchsfertige Kontrolle
- 25 ml gebrauchsfertiger Verdünnungspuffer
- 22 ml gebrauchsfertiges Konjugat (Streptavidin – HRPO)
- 22 ml gebrauchsfertiges Substrat (TMB Lösung)
- 7 ml Stopplösung

#### Testprotokoll

Die Bestimmung von OPG erfolgte mit dem ELISA-Testkit DKK-1 (BI-20412) der Firma Biomedica (Wien) und lässt sich wie folgt beschreiben.

Der Waschpuffer wird mit destilliertem Wasser 1:20 verdünnt. Mindestens einen Well für den Leerwert auf dem Mikrotiterstreifen freihalten. 150 µl Verdünnungspuffer in alle Wells geben und zusätzlich 100 µl in das reservierte Wells für den Leerwert. Der Leerwert bleibt frei, in die anderen Wells 20 µl Standard in Standard, Probe und Kontrolle auf den Mikrotiterstreifen in Doppelbestimmung pipettieren. 50 µl biotinylierter anti OPG Antikörper in alle Wells, bis auf den Leerwert geben. Den abgedeckten Mikrotiterstreifen bei Zimmertemperatur vier Stunden inkubieren. Den Inhalt der Wells entleeren und 5 x mit 300 µl Waschpuffer säubern und anschließend auf saugfähigem Papier ausklopfen. In jeden Wells 200 µl Konjugat füllen und wieder abgedeckt bei Zimmertemperatur eine Stunde inkubieren. Waschvorgang der Wells mit 5x mit 300 µl verdünntem Waschpuffer wiederholen und die Reste ausklopfen. 200 µl Substrat in alle Wells pipettieren und im Dunkeln 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubieren. 50 µl Stopplösung in alle Wells geben und anschließend die Extinktion bei 450 nm bestimmen, gegebenenfalls mit 650 nm als Referenz wiederholen.

### **3.5.2.3 Bestimmung von Dickkopf - 1**

#### Bestandteile des Tests

- Mikrotiterplattenstreifen mit Anti human DKK-1
- 50 ml Waschpuffer, 20 fach Konzentrat
- 40 ml gebrauchsfertiger Assaypuffer
- 2 x lyophilisierter, biotinylierter anti DKK-1 Antikörper
- 6 x lyophilisierte Standards
- 1 x lyophilisierte Kontrolle
- 22 ml gebrauchsfertiges Konjugat (Streptavidin-HRPO)
- 22 ml gebrauchsfertiges Substrat (TMB Lösung)
- 7 ml gebrauchsfertige Stopplösung

Die Proben werden mit dem Assaypuffer 1:4 verdünnt. Jeweils in 400 µl destilliertem Wasser Standard- und Kontroll-Lyophilisat lösen. Eine Packung anti DKK-1 Antikörper in 11 ml Assaypuffer geben und 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehen lassen. Waschpuffer 1:20 mit destilliertem Wasser verdünnen. Ein Well wird auf den Mikrotiterstreifen für den Leerwert freigehalten. Je 50 µl Standard in Standard, verdünnte Probe und Kontrolle in Doppelbestimmung in die Streifen geben. Den Leerwert freilassen. 200 µl Antikörper in alle Wells bis auf den Leerwert geben. Alles gut vermengen. Inkubation im Dunkeln der abgedeckten Streifen 18-24 Stunden bei Zimmertemperatur. Den Inhalt der Wells entleeren und 5 x mit 300 µl verdünnten Waschpuffer säubern und anschließend auf saugfähigem Papier ausklopfen. In alle Wells 200 µl Substrat pipettieren und eine halbe Stunde im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren. 50 µl Stopplösung in jeden Wells geben und anschließend die Extinktion bei 450 nm bestimmen, mit 630 nm als Referenz.

### **3.5.2.4 Bestimmung von Cathepsin K**

#### Bestandteile des Tests

- Mikrotiterplattenstreifen mit polyklonalem Schaf anti Cathepsin K - Antikörper
- 50 ml Waschpuffer, 20 fach Konzentrat
- 25 ml gebrauchsfertiger Assaypuffer
- 5 x lyophilisierte Standards
- 1 x lyophilisierte Kontrolle

- 22 ml gebrauchsfertiges Konjugat (anti Cathepsin K-HRPO)
- 22 ml gebrauchsfertiges Substrat (TMB Lösung)
- 7 ml gebrauchsfertige Stopplösung

#### Testprotokoll

Den Waschpuffer 1:20 mit destilliertem Wasser verdünnen. Standard- und Kontroll-Lysinat mit jeweils 1 ml Assay Puffer für 20 Minuten bei Raumtemperatur mischen. Jeweils 50 µl der Reagenzien Standard, Probe und Kontrolle werden in Doppelbestimmung in die Mikrotiterstreifen pipettiert, der Leerwert bleibt frei. Nun 200 µl anti Cathepsin K-HRPO in alle Wells geben und mischen, der Leerwert wird ausgelassen. Die Mikrotiterstreifen abgedeckt und im Dunkeln 20 - 24 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren. Anschließend wird der Inhalt der Wells entleert und 5 x mit 300 µl Waschpuffer gesäubert. Die Rückstände auf saugfähigem Papier ausklopfen. Jetzt 200 µl Substrat in alle Wells pipettieren und bei Zimmertemperatur 30 Minuten ohne Licht inkubieren. Danach 50 µl Stopplösung in alle Wells geben und die Extinktion bei 450 nm oder als Referenz mit 620 nm durchführen.

#### **3.5.2.5 Ermittlung der Referenzgrenzen**

Der Produzent der Testkits für OPG, DKK-1 und Cathepsin K gibt in den Gebrauchsanleitungen Mittelwerte von anscheinend gesunden Probanden an, die aber in Bezug auf das Alter, Geschlecht und der Grenzwerte nicht definiert sind. Die Referenzwerte für OPG beziehen wir aus der Publikation „Osteoprotegerin and C-telopeptide of type I collagen in Polish healthy children and adolescents“ von Gajewska J, Ambroszkiewicz J, Laskowska-Klita T, das 2006 in Advances in Medical Sciences, Vol. 51 erschien. Die Studie bestimmte OPG bei gesunden Kindern und Adoleszenten, die unserer Altersgruppe entsprachen. Ebenso wurde das ELISA-Testkit der gleichen Firma verwendet. [104]. DKK-1-Werte werden mit Werten aus den Publikationen von Brunetti et. al. [105] und Brabnikova-Maresova et. al [97] verglichen.

#### **3.5.2.6 Weitere Laborparameter**

In dieser Untersuchung wurden weitere Laborwerte ausgewertet. Die Messung der serologischen Parameter BKS, CRP und AP erfolgte im Zentrallabor des Klinikum München Innenstadt und Großhadern. Bei den meisten Patienten lagen diese Parameter bereits aus einer früheren Routinebestimmung vor. Fehlende Werte ließen wir aus dem Restserum nachbestimmen.

TNF-alpha bestimmte das Labor Limbach in Heidelberg mittels CLIVA-Verfahren. Auch hier wurden fehlende Werte nachgefordert.

Für die Laborparameter CRP, BKS, AP und TNF-alpha wurden die Referenzgrenzen vom jeweiligen Labor vorgegeben.

Laborparameter	Referenzbereich des Labors		
<b>BKS 60 min</b>	Weiblich 0-50 Jahre 25 mm Männlich 0 – 50 Jahre 15 mm		
<b>CRP</b>	≤ 0,5 mg/dl		
<b>TNF im Serum</b>	≤ 8,1 ng/l		
<b>AP</b>	Geschlecht	Alter	Bereich U/l
		1 Jahr – 10 Jahre	142 – 335
		10 – 13 Jahre	129 – 417
	Männlich	13 – 15 Jahre	116 – 468
	Männlich	15 – 17 Jahre	82 – 331
	Männlich	17 – 19 Jahre	55 – 149
	Männlich	Ab 19 Jahre	40 – 130
	Weiblich	13 – 15 Jahre	57 – 254
	Weiblich	15 – 17 Jahre	50 – 117
	Weiblich	17 – 19 Jahre	45 – 87
	Weiblich	Ab 19 Jahre	35 – 105

**Tabelle 6** Referenzbereiche BKS, CRP, TNF-alpha, AP

### 3.6 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Excel 2013 und dem Statistikprogramm SPSS Version 13 und 22 für Microsoft Windows.

Zur Zusammenfassung von Einzelwerten wurde der arithmetische Mittelwert, der Median und die Standardabweichung als Maß für die Streuung der Einzelwerte berechnet.

Da bei den Probanden ein breites Altersspektrum vorlag, transformierten wir die Messwerte für OPG und die AP in Z-Werte. Somit ist es möglich die Messwerte unabhängig vom Alter, Geschlecht und Pubertätsstatus zu betrachten.

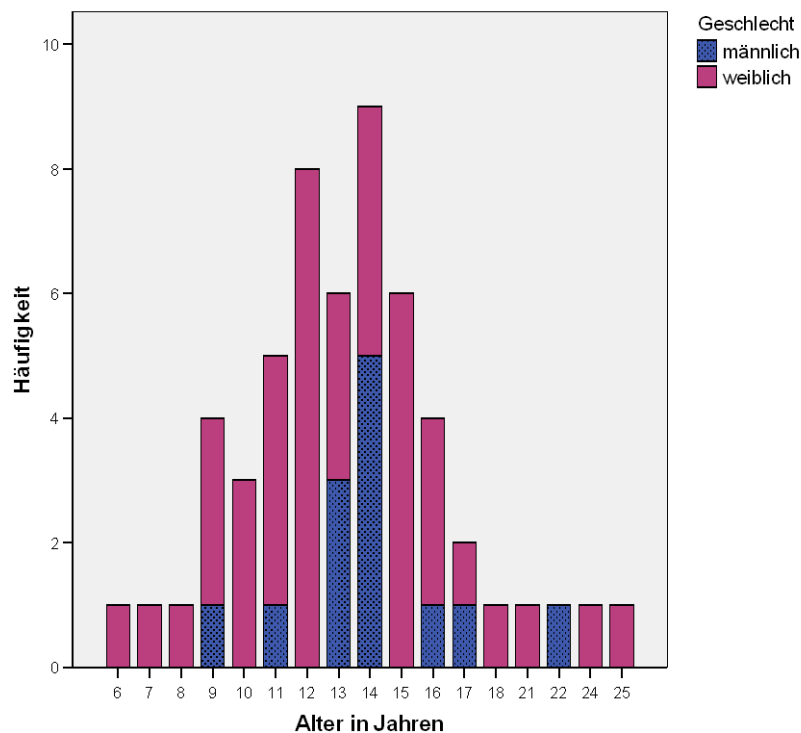
Die SD-Werte wurden mit folgender Formel berechnet: Standardwert (Z) = (Messwert vom Patienten – Mittelwert): Standardabweichung.

Zur Auswertung der Gruppen wurde der U-Test von Mann und Whitney angewandt. Der Test wird zum Vergleich der Mediane bei unverbundenen Stichproben angewandt. Die Umfänge der Stichproben können unterschiedlich sein. Eine Normalverteilung muss nicht vorliegen [106]. Ein p-Wert von  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Charakteristika der Patienten

Es nahmen 55 Patienten an der Untersuchung teil, von denen 42 weiblichen und 13 männlichen Geschlechts waren. Die Altersspanne der Patienten betrug 7 bis 25 Lebensjahre. Das mediane Alter lag bei 13 (Std.-Abw. 3,71, MW 14 Jahre) Jahren. Der Median der Erstmanifestation der Erkrankung ergab ein Alter von 11 Jahren (Std.-Abw. 3 Jahre, MW 11 Jahre, Range 6 - 17 Jahre, n=55). Vom Erkrankungsbeginn bis zum Messzeitpunkt der Knochenparameter vergingen im Median 26 Monate (Std.-Abw. 40,86, MW 36 Monate, Range 1-173 Monate, n=55). 25 Patienten erhielten zum Zeitpunkt der Blutentnahme eine krankheitsspezifische Therapie (9 Patienten Naproxen, 8 Patienten Ibuprofen, 4 Patienten Indometacin, 3 Patienten Diclofenac, 1 Patient Paracetamol. 30 Patienten erhielten keine medikamentöse Therapie.



**Abbildung 3** Verteilung des Alters bei weiblichen und männlichen Patienten



## 4.2 Bestimmung von Markern des Knochenmetabolismus

### 4.2.1 Osteoprotegerin

Die OPG-Werte wurden standardisiert (siehe Kapitel 3.6). Der mittlere Z-OPG-Wert betrug  $-1,16$  (Std.-Abw.  $\pm 1,84$ , Median  $-1,48$ ,  $n=54$ ).

54 % (29/54) der Patienten wiesen einen Z-OPG-Wert im Normbereich auf. 37 % (20/54) ( $< 2$  SD) der Probanden hatten einen erniedrigten und 9% (5/54) ( $> 2$  SD) einen erhöhten Z-OPG-Wert im Serum. In der Gruppe mit den erniedrigten Z-OPG-Werten waren die meisten Patienten mit einer multifokalen Manifestation (12/20, 75 %) und klinischer Aktivität (9/20, 45 %) (lokuläres Entzündungsgeschehen in Form von Schwellung, Überwärmung einer peripheren Knochenregion). In der Patientengruppe mit den erhöhten Z-OPG-Werten waren die meisten Patienten mit einem unifokalen Verlauf (3/5, 60%).

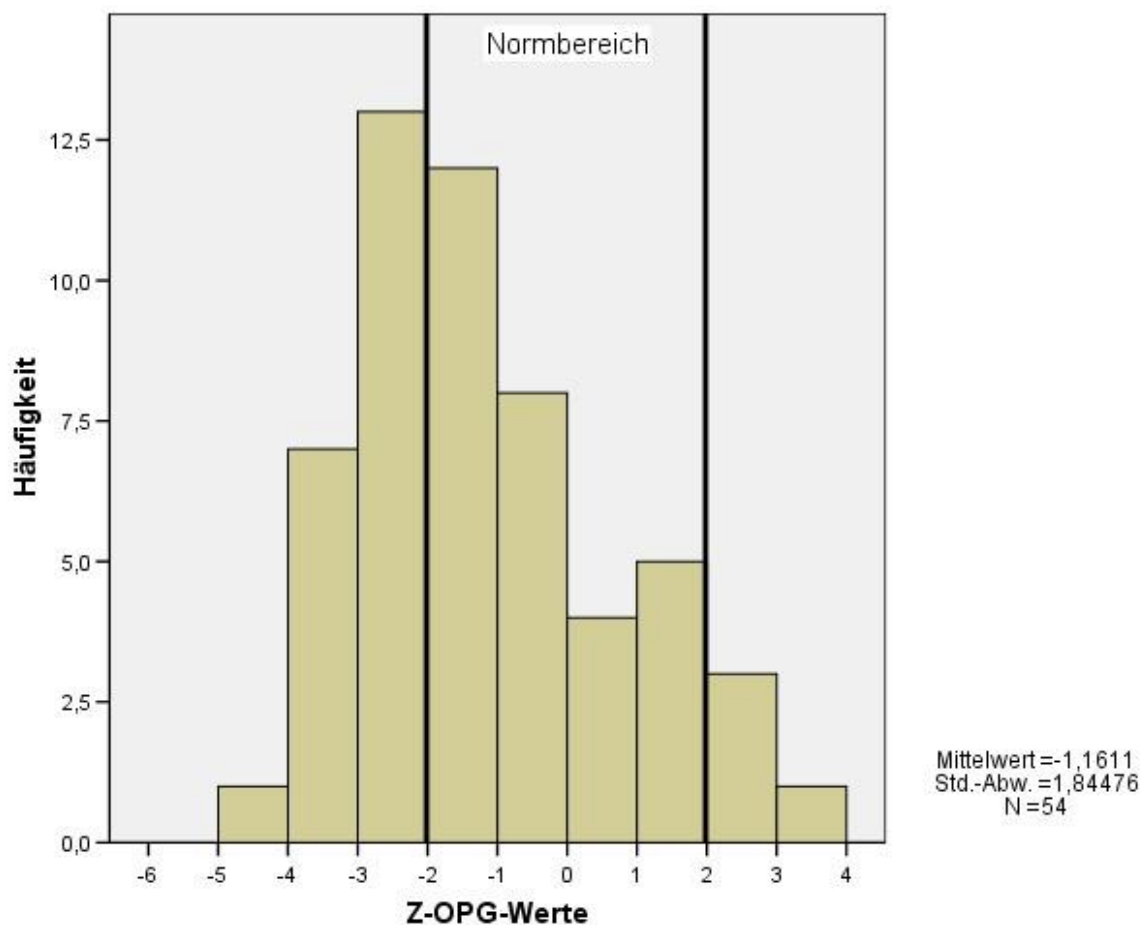


Abbildung 4 Häufigkeit der Z-OPG-Werte

#### 4.2.2 Alkalische Phosphatase

Der Mittelwert der standardisierten Alkalischen Phosphatase betrug 0,25 (Std.-Abw. 0,6, Median: -0,32, n = 52).

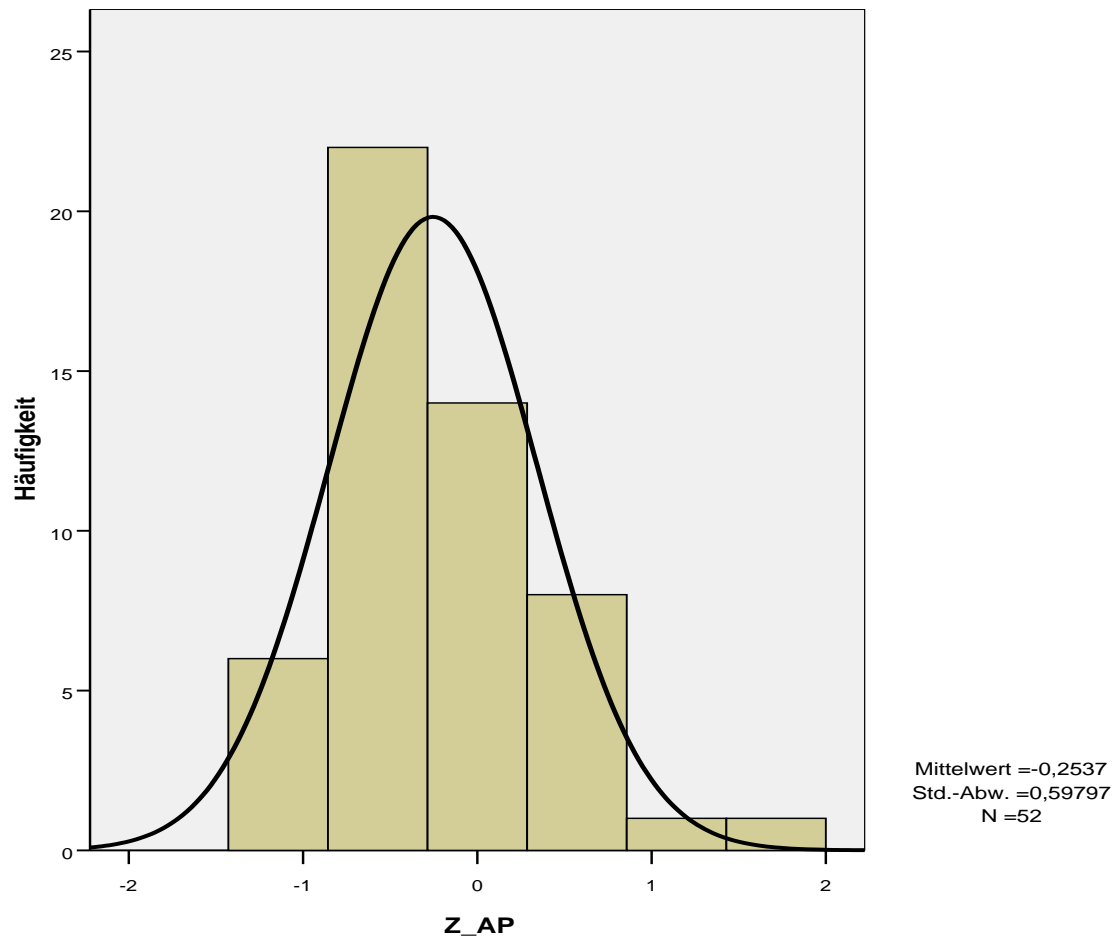


Abbildung 5 Häufigkeit der AP

#### 4.2.3 Dickkopf-1 (DKK-1)

Der Mittelwert des DKK-1 betrug 626,16 pg/ml (Std.-Abw. 251,65 pg/ml, Median 573,6 pg/ml, n = 55).

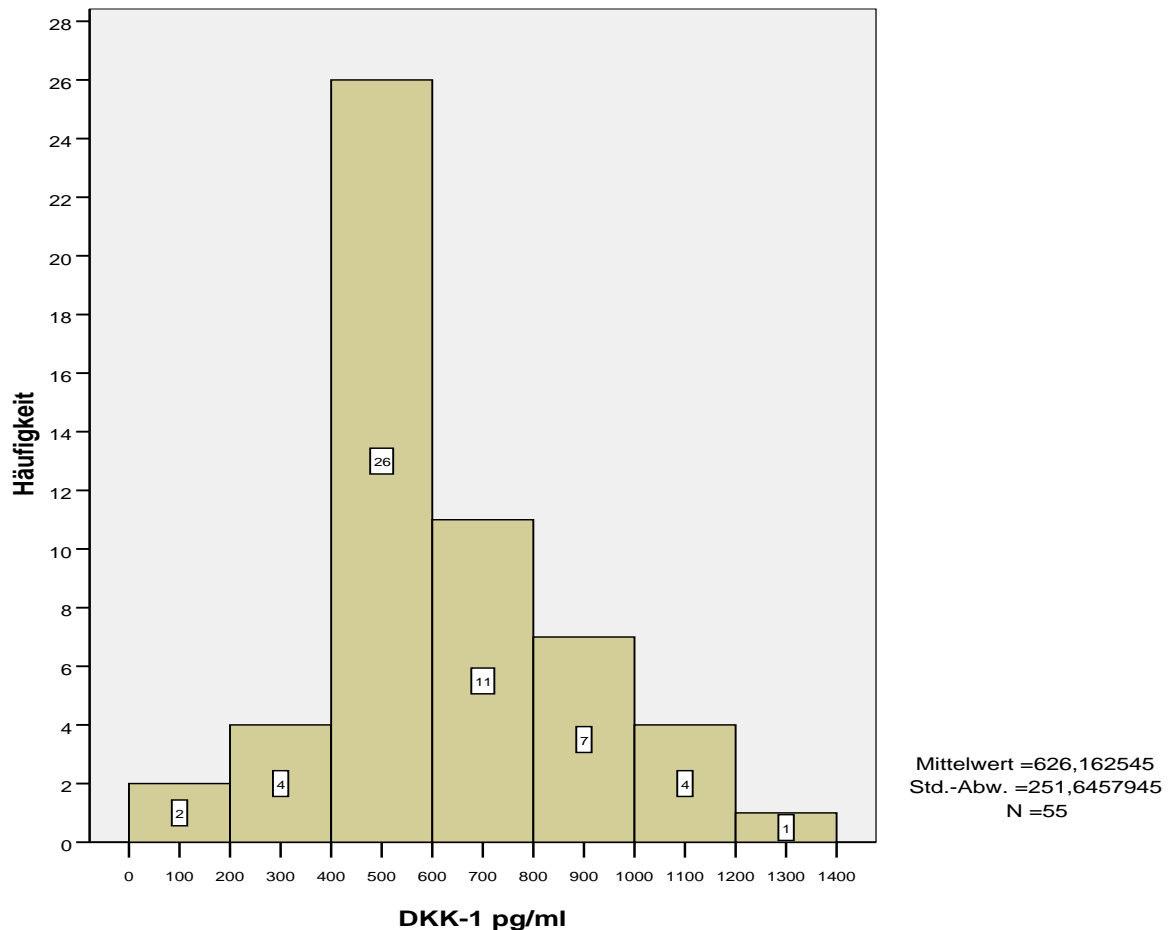


Abbildung 6 Häufigkeit des DKK-1

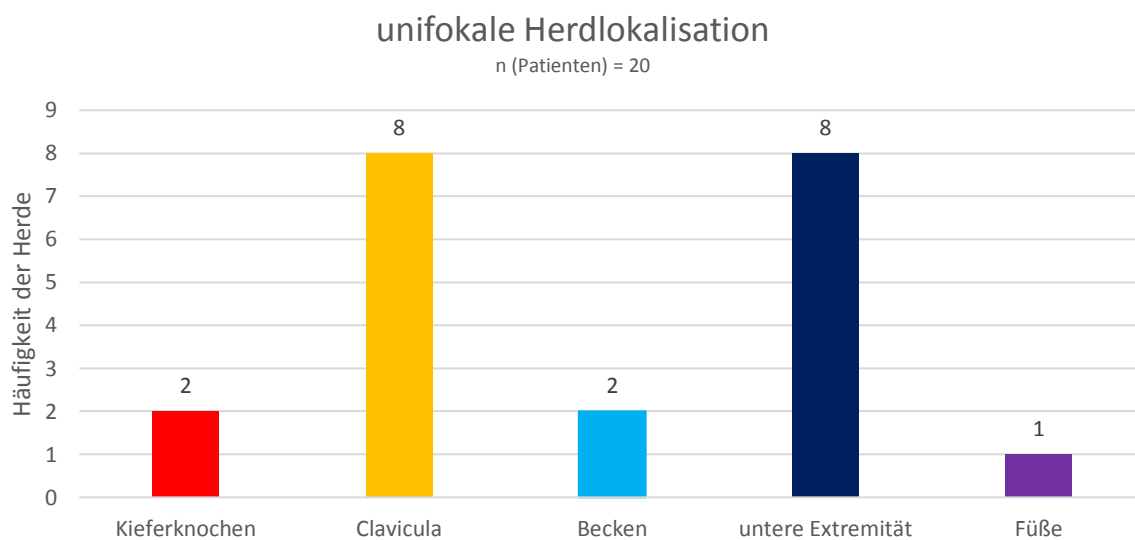
#### 4.2.4 Cathepsin K

Cathepsin K konnte mit einem Messwert von 33 pmol/l bei nur einer Probandin nachgewiesen werden. Die 17-jährige Patientin war zum Untersuchungszeitpunkt seit 11 Monaten an einer NBO erkrankt. Anamnestisch hatten die Schmerzen seit einigen Wochen zugenommen. In der klinischen Untersuchung zeigten sich keine druckschmerzhaften Knochenregionen oder Bewegungseinschränkungen der Gelenke. Im Serum war TNF-alpha normwertig, der Z-OPG-Wert betrug 3,5 (NW: -2 bis 2 SD) und DKK-1 860,4 pg/ml. Radiologisch konnten Herde im linken Beckenkamm, Os ischii mit Beteiligung der ISG-Gelenke beidseits gesichert werden. Indometacin wurde symptomatisch verabreicht. Zudem nahm die Patientin ein orales Kontrazeptivum ein.

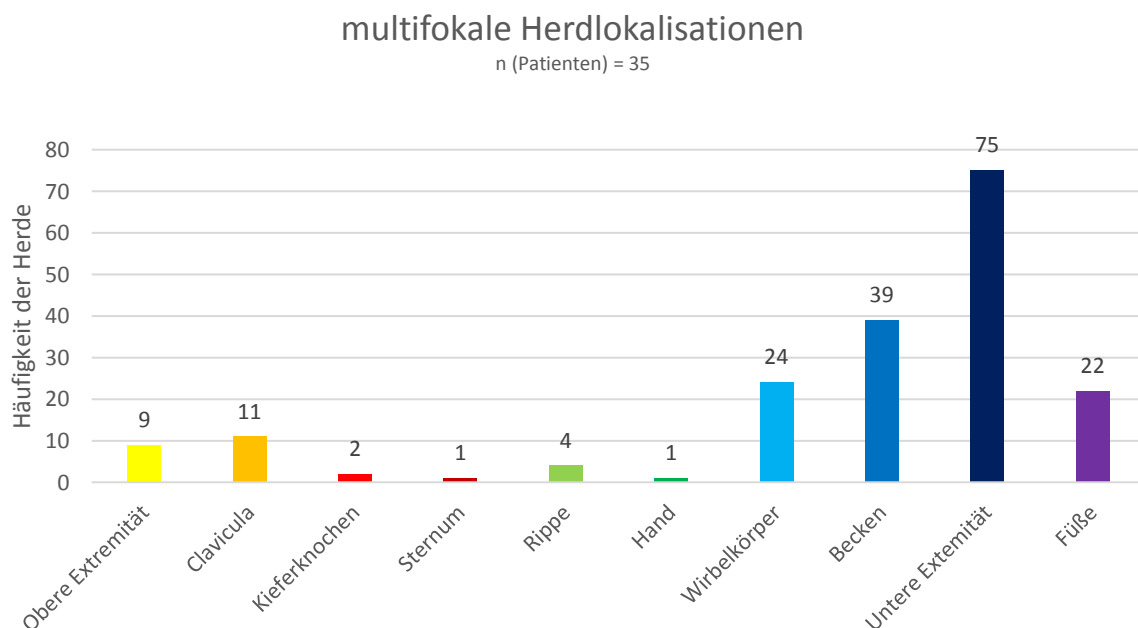
## 4.3 Vergleich der Knochenmarker OPG und DKK-1 anhand ausgewählter Schwerpunkte/Aspekte

### 4.3.1 Vergleich der Knochenmarker bei uni- und multifokaler Manifestation

20 (36%) Patienten wiesen einen unifokalen und 35 (64%) Patienten einen multifokalen Verlauf auf. Die unifokale Manifestation zeigte sich am häufigsten an der Clavicula und der unteren Extremität. Bei der multifokalen Verlaufsform ließen sich die meisten Herde an der unteren Extremität nachweisen.



**Abbildung 7** Lokalisation der Herde in Bezug auf die Gesamtpatientenzahl und Häufigkeit bei unifokaler Manifestation

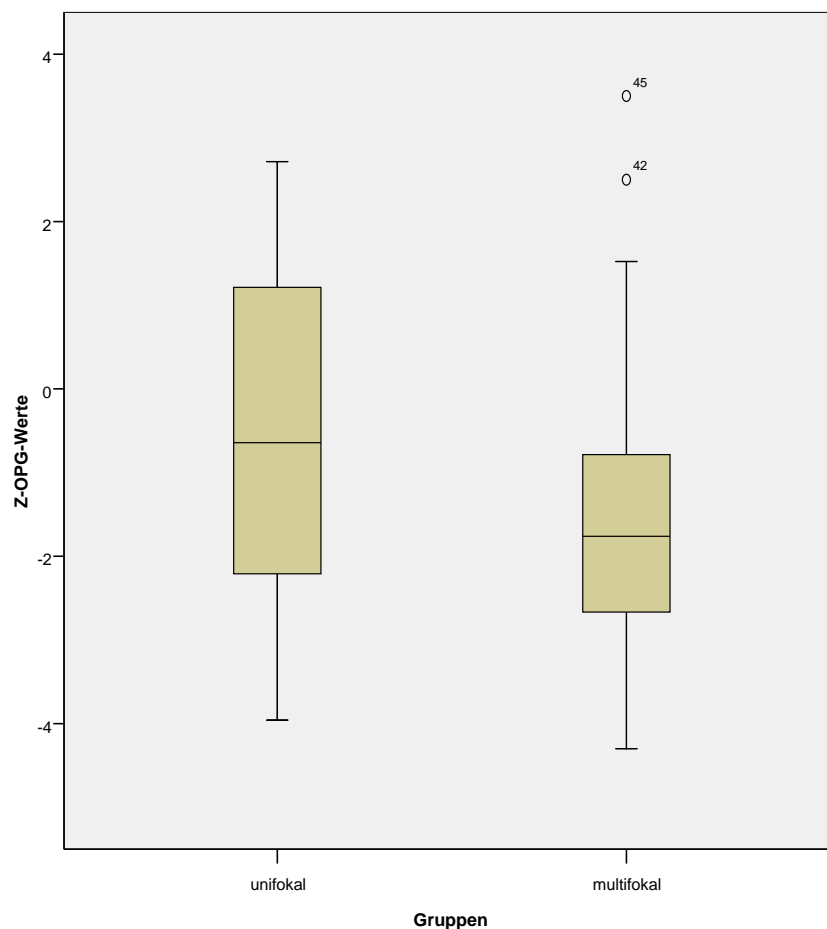


**Abbildung 8** Lokalisation der Herde in Bezug auf die Gesamtpatientenzahl und Häufigkeit bei multifokaler Manifestation

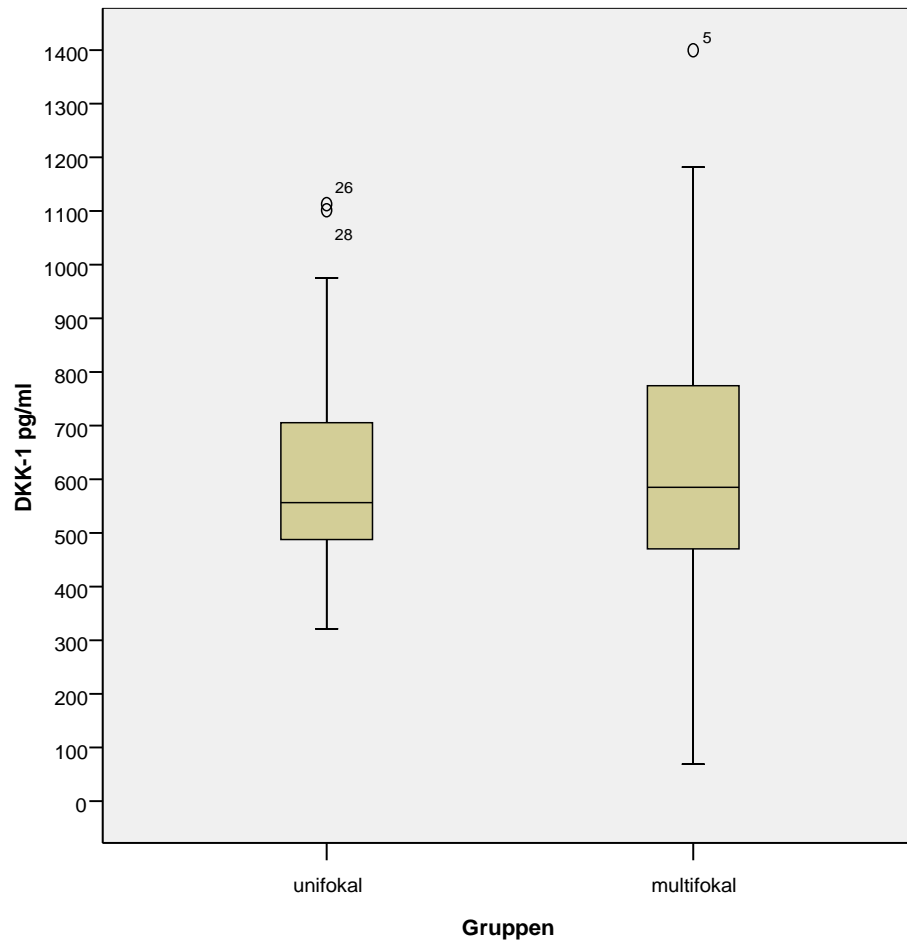
Bei Patienten mit unifokaler Verlaufsform betrug der Mittelwert des Z-OPG-Wertes -0,53 (Std.-Abw. 1,89, Median -0,64, n=20) und mit multifokaler Verlaufsform -1,53 (Std.-Abw. - +1,74, Median -1,76, n=35). Der Unterschied beträgt 1 SD. Beide Verlaufsformen liegen mit dem Mittelwert unter dem Wert von Gesunden.

DKK-1 wies bei Patienten mit unifokaler Verlaufsform einen Mittelwert von 626,37 ng/ml (Std.-Abw. -+236,38 ng/ml, Median 556,39 ng/ml, n=20) auf. In der Gruppe mit multifokaler Verlaufsform lag der Mittelwert bei 626,04 ng/ml (Std.-Abw. -+263,35 ng/ml, Median 585,07 ng/ml, n=35).

Im Mann-Whitney-U-Test wies der Z-OPG-Wert ( $p=0,05$ ) einen grenzwertig signifikanten Unterschied zwischen unifokaler und multifokaler Verlaufsform auf. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen betrug 1 SD. DKK-1 ( $p=0,861$ ) zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen unifokaler und multifokaler Verlaufsform.



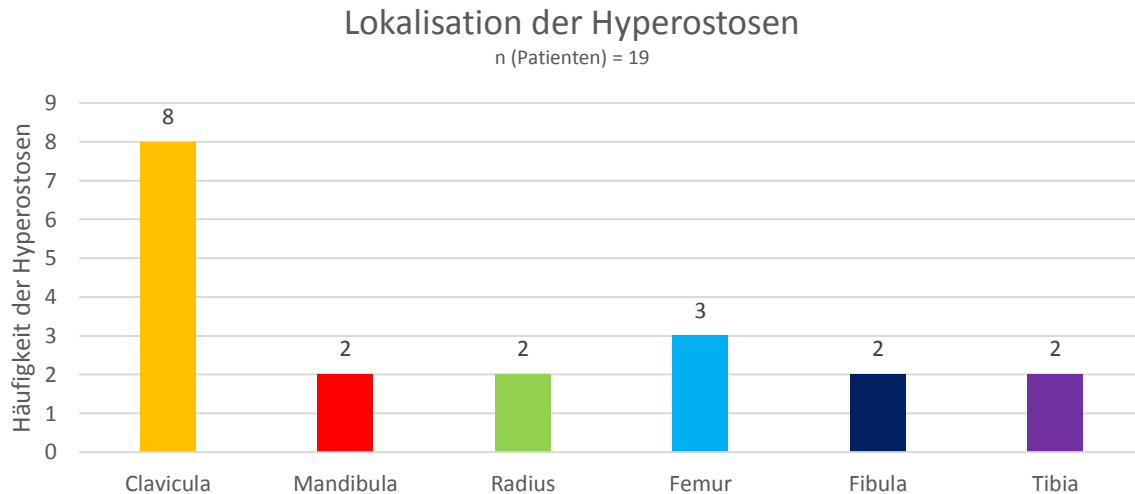
**Abbildung 9** Z-OPG-Werte bei unifokaler und multifokaler Manifestation



**Abbildung 10** DKK-1 bei unifokaler und multifokaler Manifestation

#### 4.3.2 Vergleich der Knochenmarker von Patienten mit und ohne Hyperostose

Von der Gesamtgruppe (55 Patienten) konnte bei 19 (35%) Patienten eine Hyperostose nachgewiesen werden. Die Hälfte der Patienten mit unifokalem Verlauf wies eine Hyperostose auf. Am häufigsten war die Clavicula betroffen. Kein Patient hatte mehr als eine Hyperostose.

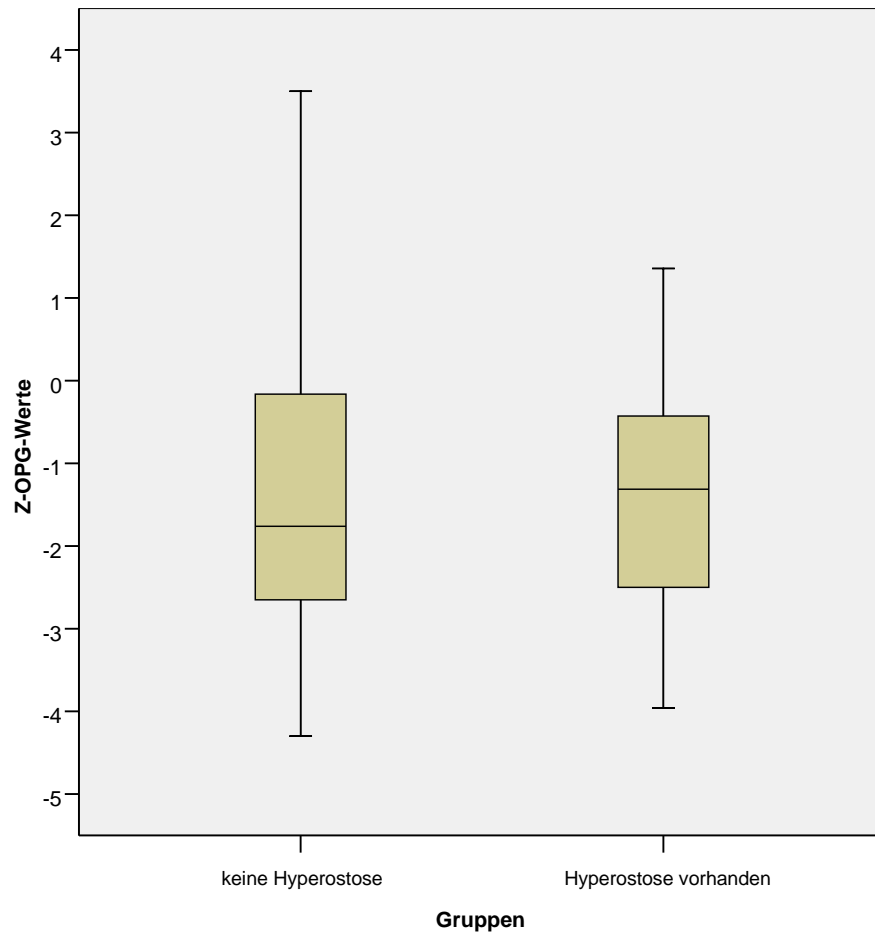


**Abbildung 11** Lokalisation und Häufigkeit der Hyperostosen

Der Mittelwert des Z-OPG-Wertes betrug bei Patienten ohne Hyperostose -1,12 (Std.-Abw. - +2,02, Median -1,76, n=36) und mit Hyperostose -1,23 (Std.-Abw. 1,53, Median -1,31, n=19). Die Mittelwerte liegen unter dem Wert von gesunden Patienten.

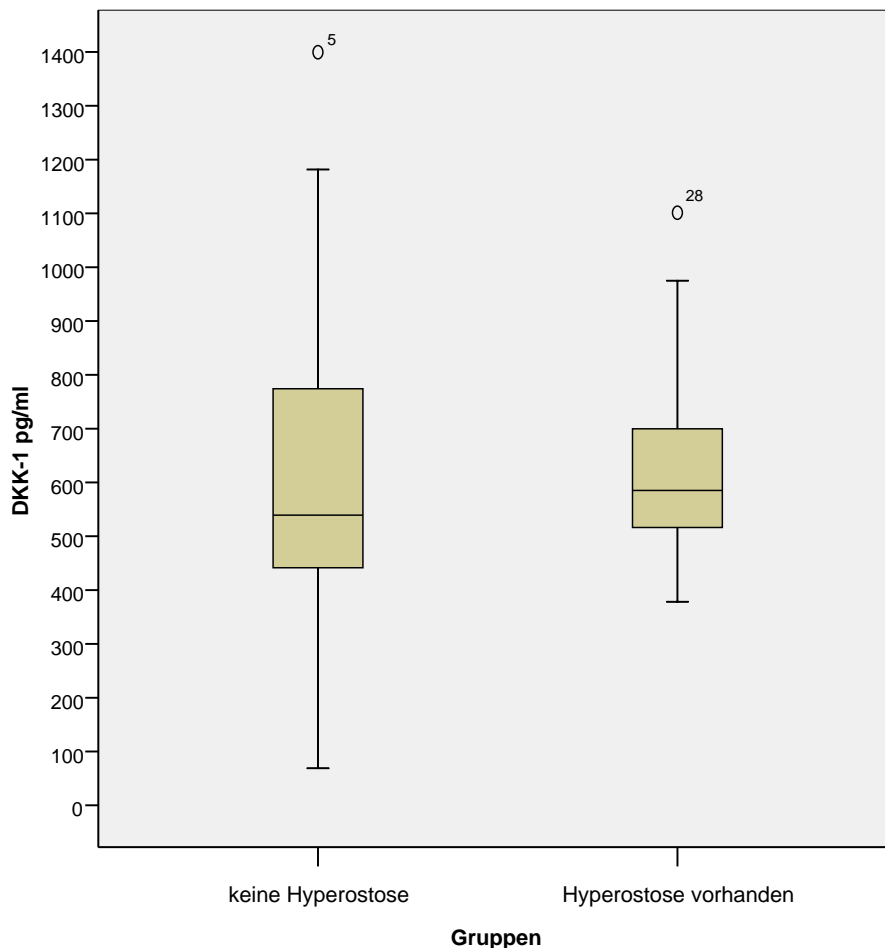
Patienten ohne Hyperostose wiesen einen Mittelwert des DKK-1 von 618,21 pg/ml (Std.-Abw. - +278,26 ng/ml, Median 539,18 ng/ml, n=36) und mit Hyperostose von 641,22 pg/ml (Std.-Abw. - +197,63 ng/ml, Median 585,07 ng/ml, n=19) auf.

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte keinen signifikanten Unterschied beim Z-OPG-Wert ( $p=0,863$ ) und bei DKK-1 ( $p=0,544$ ) zwischen Patienten ohne Hyperostose und mit Hyperostose.



**Abbildung 12** Z-OPG-Werte bei nicht hyperostotischer und hyperostotischer Manifestation





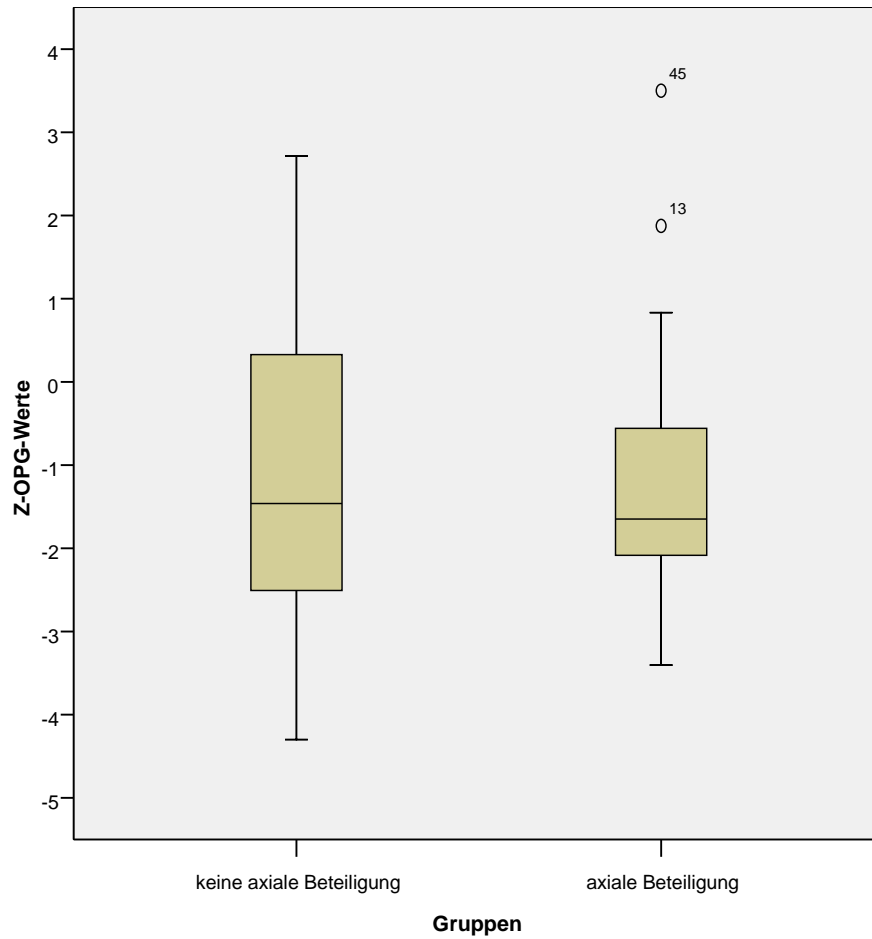
**Abbildung 13** DKK-1 bei nicht hyperostotischer und hyperostotischer Manifestation

#### 4.3.3 Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne axiale und mit axialer Beteiligung

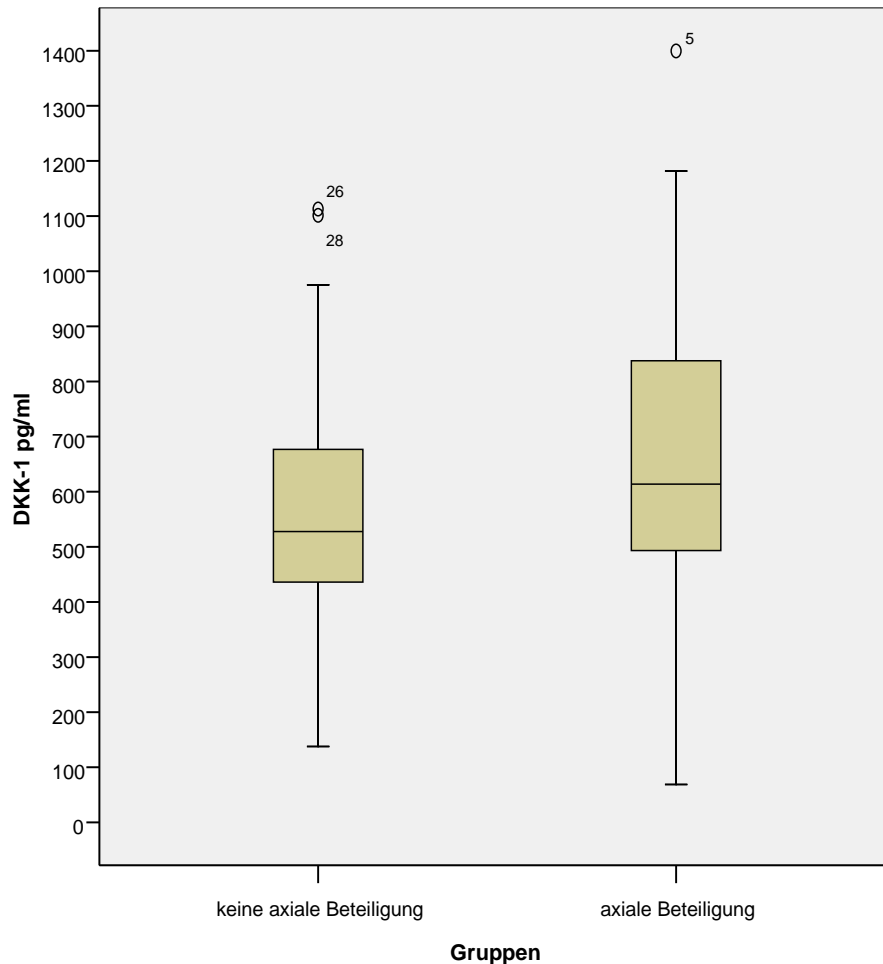
Der Mittelwert des Z-OPG-Wertes betrug bei Patienten die ohne axiale Beteiligung -1,14 (Std.-Abw.  $\pm$ 1,97, Median -1,46, n=36) und mit axialer Beteiligung -1,20 (Std.-Abw.  $\pm$ 1,68, Median -1,65, n=19).

Patienten ohne axiale Beteiligung wiesen einen Mittelwert des DKK-1 von 592,72 pg/ml (Std.-Abw.  $\pm$ 223,33 ng/ml, Median 527,71 ng/ml, n=36) und mit axialer Beteiligung von 676,33 pg/ml (Std.-Abw.  $\pm$ 287,13 ng/ml, Median 613,75 ng/ml, n=19) auf.

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte keinen signifikanten Unterschied beim Z-OPG-Wert ( $p=0,993$ ) und bei DKK-1 ( $p=0,186$ ) zwischen Patienten ohne axialer und mit axialer Beteiligung.



**Abbildung 14** Z-OPG-Werte bei nicht axialer und mit axialer Beteiligung



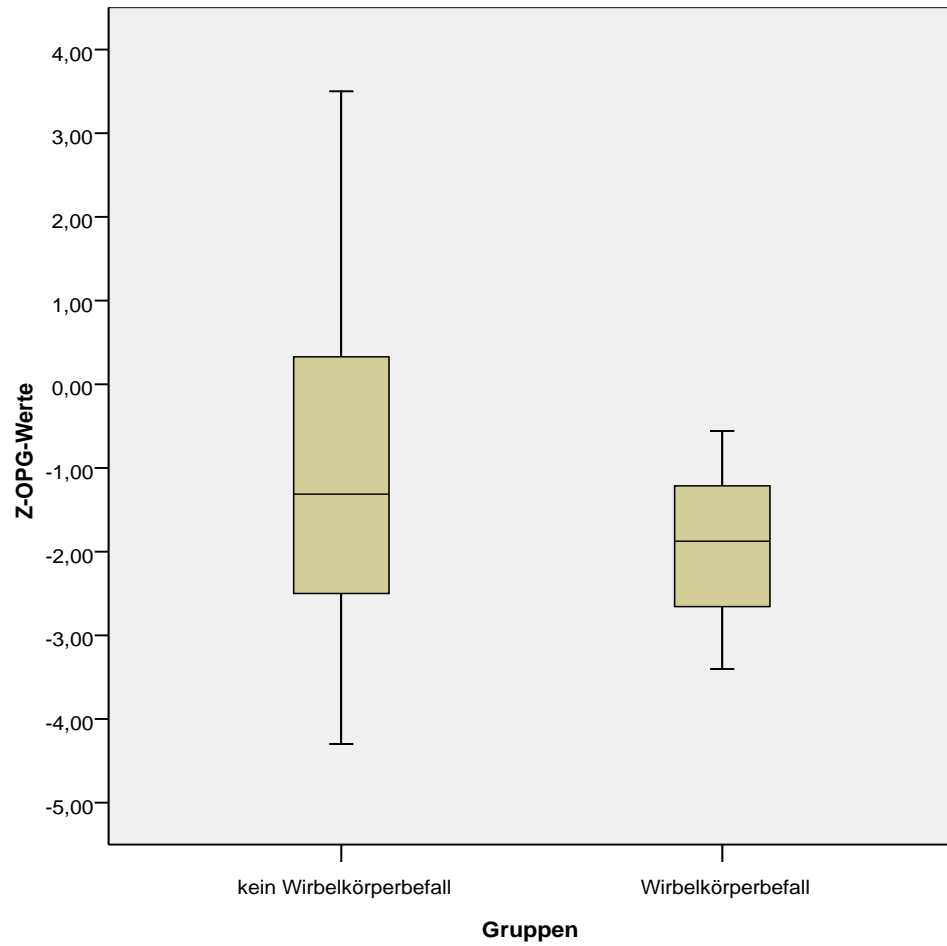
**Abbildung 15** DKK-1 bei nicht axialer und mit axialer Beteiligung

#### 4.3.4 Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne und mit Wirbelkörperbeteiligung

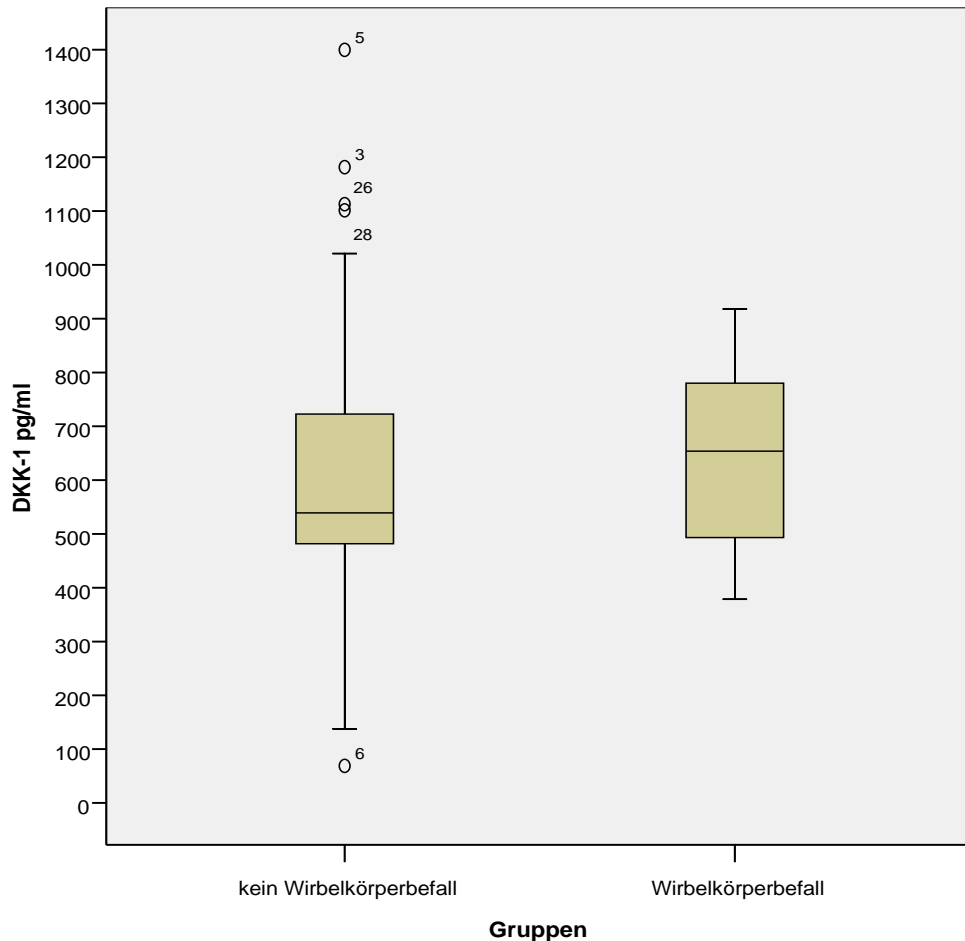
Bei Patienten ohne Wirbelkörperläsionen betrug der Mittelwert des Z-OPG-Wertes -1,01 (Std.-Abw.  $\pm 1,95$ , Median -1,31,  $n=20$ ) und mit Wirbelkörperläsionen -1,91 (Std.-Abw.  $\pm 0,90$ , Median -1,88  $n=35$ ).

DKK-1 wies bei Patienten ohne Wirbelkörperläsionen einen Mittelwert von 621,27 ng/ml (Std.-Abw.  $\pm 266,65$  ng/ml, Median 539,18 ng/ml,  $n=20$ ) auf. In der Gruppe mit Wirbelkörperläsionen lag der Mittelwert bei 648,17 ng/ml (Std.-Abw.  $\pm 177,0$  ng/ml, Median 653,91 ng/ml,  $n=35$ ).

Im Mann-Whitney-U-Test wiesen der Z-OPG-Wert ( $p=0,241$ ) und DKK-1 ( $p=0,505$ ) keinen signifikanten Unterschied zwischen Patienten ohne Wirbelkörperbeteiligung und mit Wirbelkörperbeteiligung auf.



**Abbildung 16** Z-OPG-Werte bei keiner und mit Wirbelkörperbeteiligung



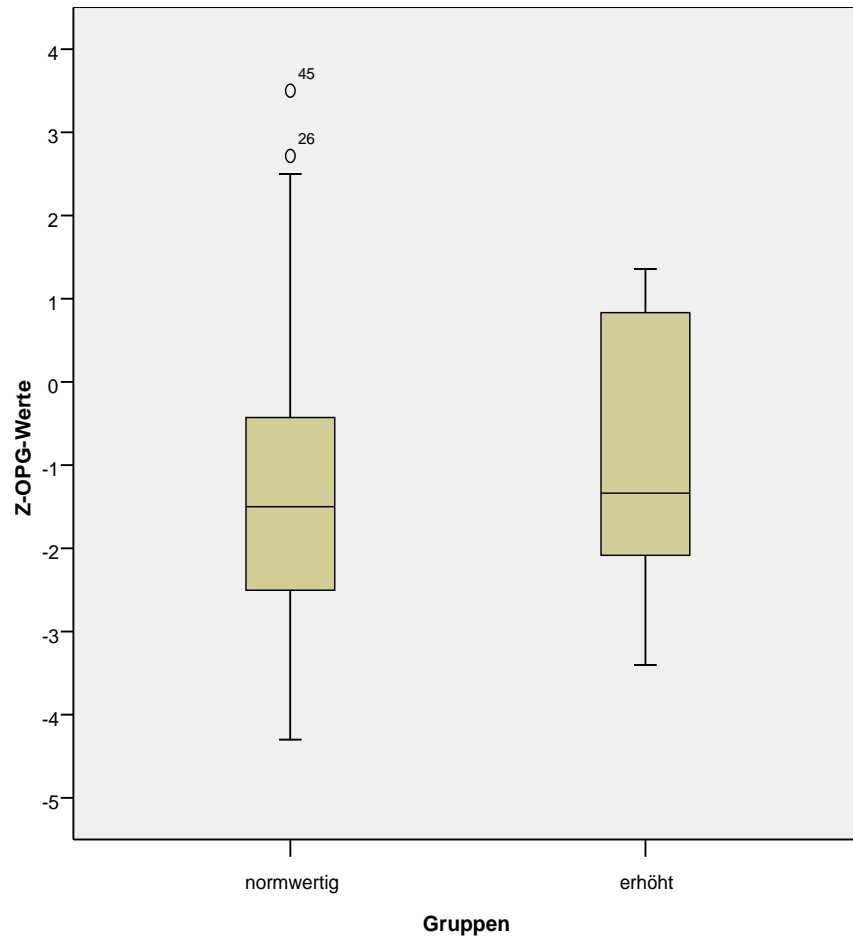
**Abbildung 17** DKK-1 mit und ohne Wirbelkörperbeteiligung

#### 4.3.5 Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne und mit erhöhten Serum-TNF-alpha-Werten

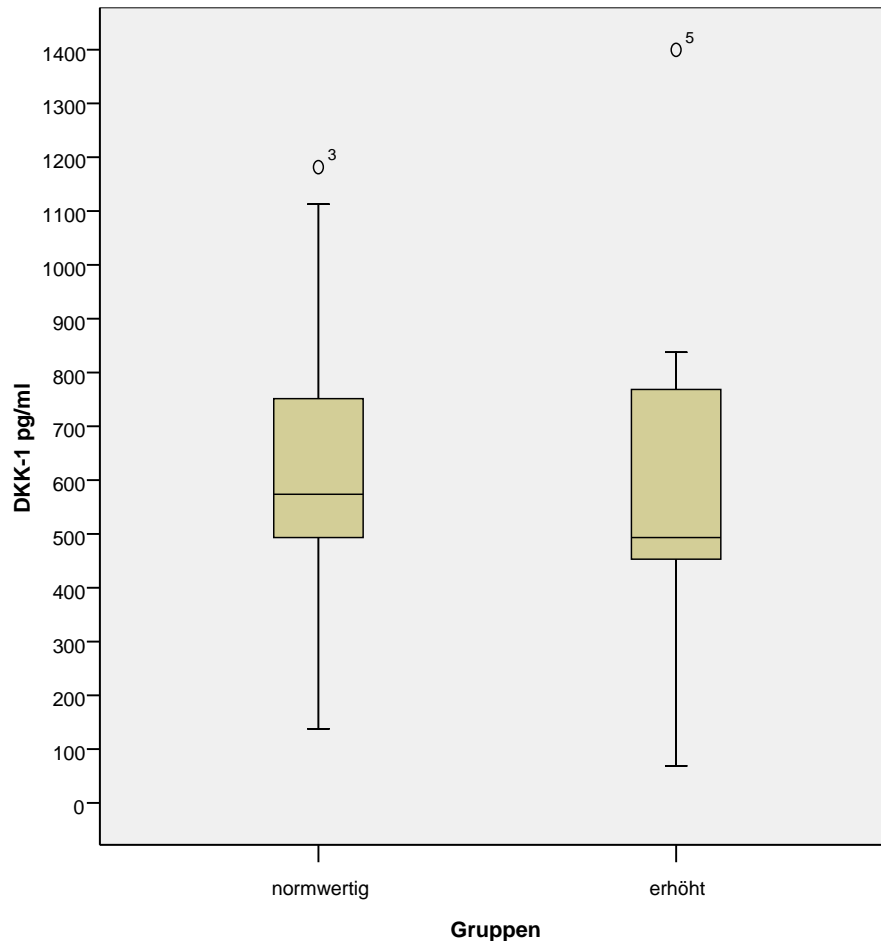
Patienten mit einem normwertigen TNF-alpha wiesen einen Mittelwert des Z-OPG-Wertes von -1,13 (Std.-Abw.  $\pm 1,86$ , Median -1,5,  $n=20$ ) und erhöhtem TNF-alpha von -1,01 (Std.-Abw.  $\pm 1,71$ , Median -1,34,  $n=10$ ) auf.

DKK-1 wies bei Patienten mit normwertigem TNF-alpha einen Mittelwert von 632,83 ng/ml (Std.-Abw.  $\pm 232,14$  ng/ml, Median 573,6 ng/ml,  $n=20$ ) auf. In der Gruppe der erhöhten TNF-alpha-Werte lag der Mittelwert bei 603,84 ng/ml (Std.-Abw.  $\pm 338,7$  ng/ml, Median 493,0 ng/ml,  $n=35$ ).

Im Mann-Whitney-U-Test wiesen der Z-OPG-Wert ( $p=0,768$ ) und DKK-1 ( $p=0,547$ ) keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen mit normwertigem und erhöhtem TNF-alpha auf.



**Abbildung 18** Z-OPG-Werte bei normwertigem und erhöhtem TNF-alpha



**Abbildung 19** DKK-1 bei normwertigem und erhöhtem TNF-alpha

#### **4.3.6 Vergleich der Knochenmarker mit Patienten, die zu einem späteren Zeitpunkt Pamidronat oder ein Biologikum erhielten**

Von den 55 Patienten erhielten 10 im weiteren Krankheitsverlauf Pamidronat, 2 Etanercept und einer Patientin wird eine Etanercept-Therapie empfohlen. Der mittlere Beobachtungszeitraum (Erstmanifestation bis Mai 2014) lag bei 56 Monaten (Std.-Abw. 40 Monate, Median 47 Monate, Range 2 - 177 Monate, n= 55).

Der Mittelwert der Z-OPG-Werte betrug bei Patienten, die im Beobachtungszeitraum keine Therapie mit Pamidronat/Etanercept benötigten bei -1,11 (Std.-Abw. +1,84, Median -1,31, n = 41) und bei Patienten die im Verlauf Pamidronat/Etanercept erhielten bei -1,32 (Std.-Abw. 1,93, Median -1,88, n = 13).

Patienten, die im Beobachtungszeitraum kein Pamidronat/Etanercept erhielten lag der Mittelwert des DKK-1 bei 589,17 pg/ml (Std.-Abw. +236,02 ng/ml, Median 527,71 ng/ml, n = 42) und bei Patienten die im Verlauf Pamidronat/Etanercept bekamen bei 745,68 pg/ml (Std.-Abw. +272,73 ng/ml, Median 825,98 ng/ml, n=13).

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen bei Z-OPG-Werten ( $p=0,592$ ). Ein signifikanter Unterschied konnte bei DKK-1 ( $p=0,023$ ) zwischen Patienten, die keine Therapie mit Pamidronat/Etanercept benötigten und Patienten, die im Verlauf auf eine dieser Therapien angewiesen waren, festgestellt werden.

In Abbildung 21 befand sich in der Gruppe „kein Pamidronat/Etanercept“ ein Patient (6) unterhalb des Medians. Der Patient war seit 11 Monaten an einer multifokalen NBO mit 3 Herden im Beckenbereich erkrankt. Die Erstmanifestation lag im 12. Lebensjahr.

Oberhalb des Medians lagen 4 Patienten (4, 26, 28, 48). Die Patienten waren im Median seit 21 Monaten (MW 24 Monate, Range 14-41 Monate,  $n = 4$ ) erkrankt. Im Median war 1 Läsion (MW 3 Läsionen, Range 1-7 Läsionen,  $n = 4$ ) vorhanden. Die Läsionen konnten in den Bereichen der Clavicula, dem Becken und der unteren Extremität nachgewiesen werden. Der mediane Erkrankungsbeginn lag bei 10 Jahren (MW 10 Jahre, Range 7-13,  $n = 4$ ).

Zudem fand sich ein Extremwert (5). Der Patient war seit 8 Monaten an einer multifokalen NBO erkrankt. Es fanden sich insgesamt 3 Läsionen im Bereich des Beckens und der unteren Extremität. Die Erkrankung manifestierte sich im 10. Lebensjahr.

Bei allen anderen Patienten ( $n=36$ ) in der Gruppe „kein Pamidronat/Etanercept“ lag das mediane Alter bei Erstmanifestation bei 11 Jahren (MW 11 Jahre, Range 6-17 Jahre,  $n = 36$ ). Die mediane Erkrankungsdauer betrug 23 Monate (MW 40 Monate, Range 1-176 Monate,  $n = 36$ ). Die Patienten hatten im Median 2 Läsionen (MW 3 Läsionen, Range 1-17 Läsionen,  $n = 36$ ). Betroffen waren der Unterkiefer, die obere Extremität, die Rippen, das Becken und die untere Extremität. Bei 4 Patienten (11 %) gab es eine Wirbelkörperbeteiligung.

Betrachtet man alle Patienten in der Gruppe „kein Pamidronat/Etanercept“ lag der Altersmedian bei Erstmanifestation bei 11 Jahren (MW 11 Jahre, Range 6 - 17 Jahre,  $n = 42$ ). Die Patienten waren im Median seit 19 Monaten erkrankt (MW 37 Monate, Range 1 – 176 Monate,  $n = 42$ ). 2 Läsionen im Median (MW 3 Läsionen, Range 1 - 17,  $n = 42$ ) konnten nachgewiesen werden. Sie befanden sich im Bereich des Unterkiefers, der oberen und unteren Extremität und dem Becken.

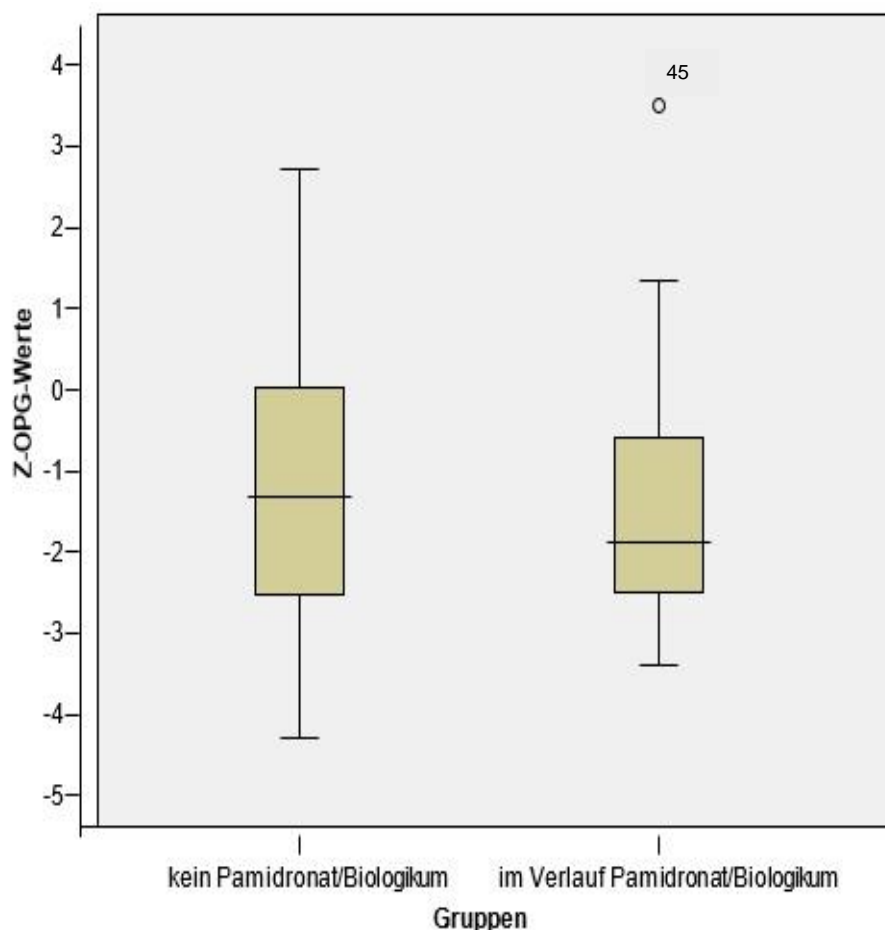
In der Gruppe „im Verlauf Pamidronat/Etanercept“ gab es einen Patienten (12) unterhalb des Medians. Der Patient erkrankte im 10. Lebensjahr. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme für unsere Untersuchung war der Proband seit 34 Monaten erkrankt, wies einen Herd an der Tibia und an einer Rippe auf. Er war klinisch beschwerdefrei. Eineinhalb Jahre später traten rezidivierende Schübe auf und es wurde eine Therapie mit 7 Zyklen Pamidronat begonnen. Eineinhalb Jahre nach der Pamidronat-Therapie zeigte der Patient wieder eine klinische Aktivität. Zu diesem Zeitpunkt lag DKK-1 bei 791, 57 pg/ml (Ausgangswert 137,66 pg/ml).



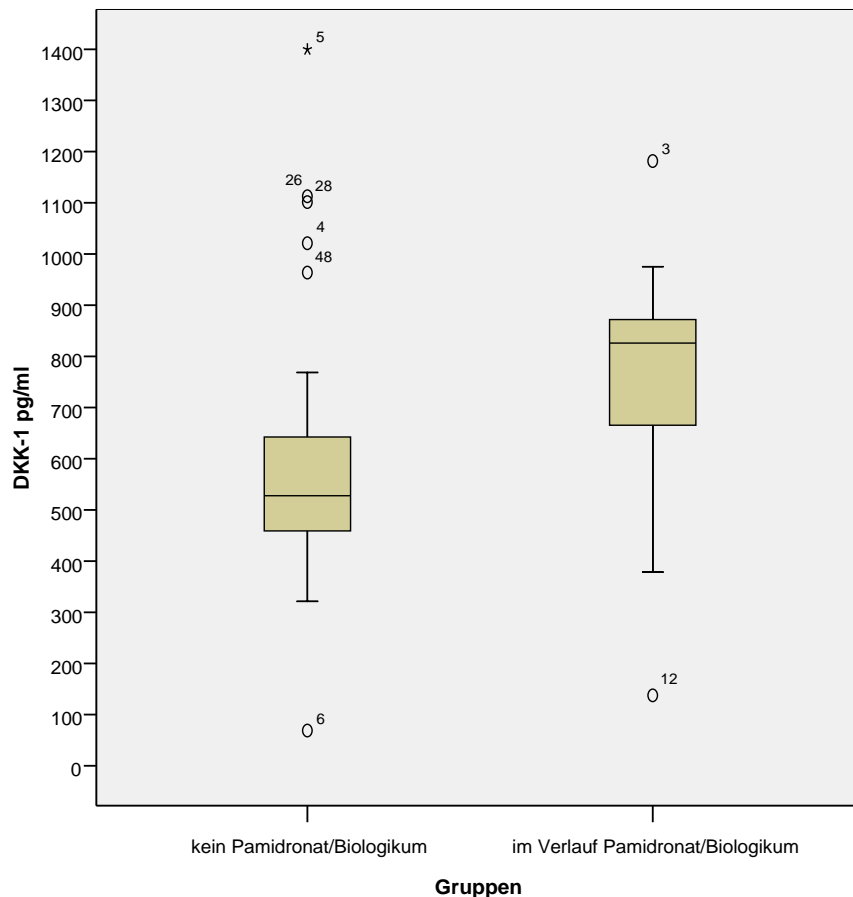
Ein weiterer Patient (3) lag oberhalb des Medians. Die NBO manifestierte sich bei der Patientin im 7. Lebensjahr. Die Erkrankungsdauer betrug 4 Monate. Es konnten 11 Läsionen im Bereich des Beckens und der unteren Extremität nachgewiesen werden.

Betrachtet man alle Patienten in der Gruppe „im Verlauf Pamidronat/Etanercept“ lag das mediane Alter der Erstmanifestation bei 10 Jahren (MW 11 Jahre, Range 8-17 Jahre, n = 13). Die mediane Erkrankungsdauer betrug 31 Monate (MW 33 Monate, Range 4 - 77 Monate, n = 13). Im Median hatten die Patienten 4 Läsionen (MW 6 Läsionen, Range 1-16), die in folgenden Bereichen auftraten: Unterkiefer, obere Extremität, Rippen, untere Extremität, Wirbelkörper. 6 Patienten (46%) wiesen eine Wirbelkörperbeteiligung auf.

Pamidronat bzw. Etanercept wurden nach einer medianen Erkrankungsdauer von 35 Monaten (MW 46 Monate, Range 8 – 111 Monate, n=13) verordnet. Indikationen für diese Therapien waren multiple Läsionen, Wirbelkörperbeteiligung, gravierende Bewegungs- und Funktionseinschränkungen, keine ausreichende Linderung der Symptomatik unter NSAIDs und Steroiden, rezidivierende Schübe, konstante Schmerzen und eine verminderte Belastbarkeit.



**Abbildung 20** Z-OPG-Werte bei Patienten ohne und mit Therapieeskalation im späteren Krankheitsverlauf



**Abbildung 21** DKK-1 bei Patienten ohne und mit Therapieeskalation im späteren Krankheitsverlauf

## 5. Diskussion

Wir untersuchten die Knochenmarker Osteoprotegerin (OPG), Alkalische Phosphatase (AP), Dickkopf-1 (DKK-1) und Cathepsin K im Serum von insgesamt 55 Patienten mit NBO. 76 % waren weiblichen Geschlechts. Auch in anderen Studien erkrankten Mädchen häufiger als Jungen an einer NBO [46, 47, 51]. Die Erstmanifestation lag bei unseren Patienten durchschnittlich im Alter von 11 Jahren, was den Angaben in der Literatur entspricht [21, 34, 47].

Die untersuchten Knochenmarker sind geeignet, um dynamische Prozesse im Knochenstoffwechsel im Serum nachzuweisen [87, 90].

Der Hersteller der Testkits garantiert eine einwandfreie Bestimmung der Marker von tiefgefrorenen Seren bis zu zwei Jahren. Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns wurden Serumproben verwendet, die teilweise länger als zwei Jahre tiefgefroren waren (Median 2,8 Jahre, MW 3,4 Jahre, Range 5 - 96 Monate). Die Messwerte könnten geringer ausfallen, wodurch die Aussagekraft der Ergebnisse eingeschränkt wird.

Da Cathepsin K bei nur einer Patientin nachweisbar war, gehen wir bei dieser Untersuchung von einem analytischen Messfehler aus. Im Weiteren wird nicht auf Cathepsin K eingegangen.

### **Osteoprotegerin**

Zu OPG ist aus der Literatur zu entnehmen, dass gesunde Kinder und Jugendliche in verschiedenen Altersstufen unterschiedliche mittlere OPG-Spiegel im Serum aufweisen. Mit steigendem Alter nimmt OPG ab [104, 107]. Um die diagnostische Validität einschätzen zu können, bezogen wir die Referenzwerte aus der Publikation von Gajewska et. al.. Die Forschergruppe untersuchte bei 102 gesunden Patienten im Alter von 6 – 24 Jahren geschlechts- und pubertätsspezifisch das OPG im Serum mit dem gleichen Testkit der Firma Biomedica. Das Altersspektrum entsprach in etwa dem Alter der bei uns untersuchten Patienten. Da bei unseren Patienten ein breites Altersspektrum und unterschiedliche Pubertätsstadien vorlagen, transformierten wir die Messwerte für OPG in standardisierte SD-Werte, mittels den Messwerten aus der Publikation von Gajewska et al. [104]. Somit ist es möglich die Messwerte unabhängig vom Alter, Geschlecht und Pubertätsstatus zu betrachten. Aufgrund der geringen Stichprobengröße war eine geschlechtergetrennte Auswertung nicht möglich.

In unserer Untersuchung wiesen 54 % der Patienten im Serum einen Z-OPG-Wert im Normbereich auf. In 37 % der Seren konnte ein erniedrigter und in 9 % ein erhöhter Z-OPG-Wert gemessen werden.

Entsteht ein Ungleichgewicht zwischen RANKL und OPG kann das Auswirkungen auf den Knochenstoffwechsel haben. Eine Hochregulation von RANKL begünstigt die Herabregulation von OPG, sodass dadurch die Osteoblastogenese vermindert und die Osteoklastogenese angeregt wird [108]. Das könnte auch auf die Seren mit erniedrigten Z-OPG-Werten zutreffen, da in dieser Gruppe die meisten Patienten mit multifokaler Manifestation und klinischer Aktivität im Vergleich zu den anderen Gruppen waren. Es kann angenommen werden, dass die Osteoblastogenese vor allem bei multifokaler Manifestation unterdrückt wird und die Osteoklastogenese vermehrt aktiv ist.

Es gibt auch andere Erkrankungen, die mit einer ineffizienten OPG-Produktion einhergehen und negative Auswirkungen auf den Knochen haben. In einer Untersuchung von Spelling et. al. wiesen Patienten mit polyartikulärer juveniler idiopathischer Arthritis niedrigere OPG-Serumspiegel auf als Gesunde, das auf ein Ungleichgewicht zwischen Osteoblasten und Osteoklasten hinweisen könnten. Alle Erkrankten hatten bereits röntgenologische Veränderungen der betroffenen Areale [89]. Whyte et al. konstatierte, ein Mangel an OPG im Serum könnte bei der Pathogenese der juvenilen Osteodystrophia deformans (M. Paget)

eine Rolle spielen. Die autosomal-rezessive Erkrankung ist durch einen unorganisierten Knochenumbau, Osteopenien, Frakturen und progressiven Skelettdeformationen charakterisiert [109].

Alle diese Erkrankungen neigen wie die NBO zu Läsionen am Knochen bzw. den Gelenken. Es ist anzunehmen, dass auch bei etwa 1/3 der Patienten OPG herabreguliert ist und die Osteoklastogenese dadurch anregt wird.

Im Knochen wird OPG überwiegend von Osteoblasten sezerniert [110]. Da bei der NBO direkt der Knochen vom entzündlichen Geschehen betroffen ist, könnten auch insbesondere dort die Osteoblasten in ihrer Funktion gehemmt und somit weniger OPG gebildet werden. So zeigen sich in der Gruppe mit erniedrigten Z-OPG-Werten auch die meisten Patienten mit klinischer Aktivität im Vergleich zu den anderen Gruppen. Eventuell ist bei diesen Seren die Osteoblastenaktivität besonders gehemmt, da der entzündliche Prozess bereits objektiv beurteilbar ist.

9 % der Seren wiesen erhöhte Z-OPG-Werte auf. In dieser Gruppe waren die meisten Seren von Patienten mit unifokalem Verlauf. Im Median gab es hier eine Läsion weniger, Hyperostosen kamen nicht vor. Durch ein erhöhtes OPG wird die Osteoklastogenese gehemmt [108]. Das könnte den milderen Verlauf (unifokale Manifestation) im Vergleich zur Gruppe mit erniedrigten Z-OPG-Werten (multifokale Manifestation) widerspiegeln.

### **Alkalische Phosphatase**

Die AP spiegelt die Homöostase der Osteoblasten wieder [90]. Da alle Routineseren in der vorliegenden Studie Normwerte für die AP aufwiesen, scheint sie keine bedeutende Rolle im Knochenstoffwechsel bei NBO einzunehmen. Das Labor gab geschlechts- und altersspezifische Referenzwerte an.

### **Dickkopf-1**

Die DKK-1 – Serumwerte ergaben im Rahmen dieser Untersuchung einen Mittelwert von 626,16 pg/ml. In der Literatur wurde keine Klassifizierung des DKK-1-Spiegels im Serum aufgrund des Geschlechts oder Alters vorgenommen [97, 105]. In der Herstellerangabe des Testkits war ein Mittelwert von 18 gesunden Spendern von 1508,57 pg/ml (52,6 pmol/l) angegeben. Die Forschungsgruppe Brunetti et al. kam auf eine mittlere DKK-1 Serumkonzentration bei 18 gesunden Minderjährigen mit einem durchschnittlichen Alter von 11  $\pm$  5,9 Jahren auf 1666  $\pm$  88 pg/ml (Range 1019 -2318 pg/ml). Sie verwendeten, wie in unserer Studie, das ELISA-Kit der Firma Biomedica/Wien [105]. Ebenso wurde das gleiche ELISA-Kit in der Publikation von Brabnikova-Maresova et. al angewandt. Sie maßen bei 83 gesunden Patienten einen durchschnittlichen DKK-1 Serumwert von 28,74 pmol/l, entspricht umgerechnet 824,26 pg/ml. Das mittlere Alter der Patienten betrug 23,8 Jahre [97].

Teilweise sind große Diskrepanzen zwischen den Werten erkenntlich, obwohl jeweils das gleiche ELISA-Kit der Firma Biomedica verwendet wurde. Gründe hierfür könnten die unterschiedlichen Laboratorien und Geräte sein, in diesen die Bestimmungen durchgeführt wurden.

Der DKK-1 Serum-Mittelwert der Seren mit NBO liegt in Anbetracht der oben genannten Werte unter den Werten von Gesunden. Eigentlich würden wir bei einer Erkrankung mit überwiegender Knochenläsionen eher höhere DKK-1-Spiegel erwarten, in unserer Untersuchung ist aber Gegenteiliges zu verzeichnen, sodass ein „Low-bone-turnover“ vorliegt.

Ein weiterer Erklärungsansatz für die niedrigen DKK-1-Spiegel in den Seren könnte ein Reparaturmechanismus sein, der den Läsionen entgegenwirkt. DKK-1 inhibiert den Wnt-Signalweg und hemmt dadurch die Knochenbildung [110]. Die Knochenbildung wird angeregt, wenn weniger DKK-1 vorhanden ist. Somit könnte der zelluläre Mechanismus bereits an der Reduktion der Läsionen arbeiten. Dieser Hypothese stehen allerdings niedrig normale Werte der Alkalischen Phosphatase wie bei einem „low turnover“ entgegen, sodass auch ein erniedrigter Knochenumsatz wahrscheinlich ist.

Seren mit sehr niedrigen DKK-1-Spiegeln zeigten im Vergleich zu Seren mit sehr hohen DKK-1-Spiegeln keine Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit in Bezug auf uni-, multifokale Manifestation, mediane Anzahl der Läsionen, humorale und klinische Entzündungsaktivität. DKK-1 scheint dies nicht zu beeinflussen.

### **Auswertung OPG und DKK-1**

In Anbetracht von OPG und DKK-1 in Bezug auf die oben genannten Publikationen liegt bei 37 % der Patienten eine „Low – Turnover“ – Situation im Knochenstoffwechsel vor. Ein „Low-Turnover“ ist definiert durch einen herabgesetzten Knochenumsatz und eine verringerte Anzahl osteoblastärer und –klastärer Zellen [111]. Häufig kommt diese Knochenstoffwechselsituation bei primärer Osteoporose vor. Mehl et. al entnahmen bei Patienten mit primärer Osteoporose Knochenbiopsien. Histologisch war eine „Low-Turnover“-Situation durch eine verminderte intertrabekuläre Vernetzung und endostalen Umbau gekennzeichnet. Osteoblasten und Osteoklasten fehlten im Biopsat. Sie untersuchten auch die Knochenmarker Osteocalcin, DPD-Crosslinks und die Gesamt-AP im Serum bzw. im Urin. Allerdings konnte anhand der Marker keine signifikante Zuordnung zum histologischen Befund erfolgen. Interessant wäre, auch bei der NBO diese Fragestellung histologisch zu untersuchen. Eventuell spiegeln Knochenmarker im Serum bzw. im Urin nicht die direkten Vorgänge am Knochen wieder. Bei einer Low-Turnover Osteoporose wird eine osteoanabole Therapie mit Parathormon empfohlen. [111]. Es gibt Parathormon-Analoga,

welche zur Behandlung der Osteoporose bei postmenopausalen Frauen und Männern zugelassen sind [24]. Diese induzieren die Stimulation der Osteoblasten, füllen die Resorptionslakunen und regen die Knochenneubildung an [112]. Somit könnten sie auch bei NBO die „Low-Turnover“ Knochenstoffwechselsituation verbessern.

54 % der Seren wiesen normwertige Z-OPG-Werte und erniedrigte DKK-1-Werte auf. Hier zeigte sich nur eine erniedrigte Osteoklastenaktivität.

Seren mit der kürzesten medianen Erkrankungsdauer zeigten erniedrigte Z-OPG-Werte und erhöhte Werte lagen bei der längsten Erkrankungsdauer vor. In Bezug auf DKK-1 war Gegensätzliches zu verzeichnen. Bei einer kurzen medianen Erkrankungsdauer lagen die DKK-1 Werte im Bereich der oberen 10 %, bei der längsten medianen Erkrankungsdauer im unteren Bereich von 10 %. Möglicherweise könnte zu Beginn der Erkrankung die Osteoklastogenese überwiegen und die Produktion von Läsionen anregen. Die Osteoblastenfunktion wird unterdrückt. Bei längerer Erkrankungsdauer überwiegt die Osteoblastogenese, die dann vermutlich Reparationsvorgänge induziert. Diese Interpretation deckt sich auch mit klinischen Beobachtungen.

Die humorale Krankheitsaktivität (siehe Tabelle im Anhang, S. 69) scheint OPG und DKK-1 nicht zu beeinflussen, da keine großen Differenzen zwischen den Gruppen vorlagen.

Es ist anzumerken, dass beim Vergleich mit Gesunden die Beurteilung der Wertigkeit unserer OPG- und DKK-1-Werte im Serum eingeschränkt ist, da keine eigene Referenzgruppe mit gesunden Patienten vorhanden war. In den Herstellerangaben waren orientierende Messwerte von gesunden Erwachsenen angegeben. Es wird allerdings empfohlen, eigene Bestimmungen vorzunehmen. Ferner sind Studien vorzunehmen, die einen Referenzbereich für Werte bei Gesunden im Serum ermöglichen und dadurch die Werte leichter einzuordnen sind. Des Weiteren kommt hinzu, dass die Seren zum Teil sehr lange eingefroren waren, was einen Einfluss auf die Messung haben könnte. Ebenfalls einschränkend ist die unterschiedliche Zeitspanne der Messung innerhalb der Erkrankung.

### **Vergleich der Knochenmarker bei uni- und multifokaler Manifestation**

In unserer Untersuchung wiesen Patienten bei Betrachtung der Z-OPG-Werte zwischen uni- und multifokaler Manifestation einen signifikanten Unterschied auf. Der mittlere Z-OPG-Wert bei Patienten mit multifokalem Befall lag 1 SD unter dem Mittelwert bei Vorliegen eines unifokalen Befalls. Eine multifokale Manifestation ist durch das Auftreten von mehr als einer Knochenläsion gekennzeichnet [113]. Es ist anzunehmen, dass bei multiplen Knochenläsionen die Osteoklastogenese stärker aktiv ist. Die niedrigeren Z-OPG-Werte bei multifokalen Befall könnten daraufhin weisen, dass die Osteoklastogenese vermehrt aktiv ist und der Knochenmetabolismus hinsichtlich der Osteoblasten gehemmt wird. Bei unifokaler

Manifestation liegt eine höhere Osteoblastenaktivität vor. Ob DKK-1 einen Einfluss auf die Anzahl von Knochenläsionen haben kann, untersuchte die Forschergruppe von Kaiser et al. bei Patienten mit Multiplem Myelom. Sie stellten fest, je höher die Anzahl der Läsionen, desto höher war DKK-1 im Serum [114]. Allerdings spielt DKK-1 als Marker der Osteoklastogenese zwischen uni- und multifokalem Befall bei NBO keine Rolle, da es keinen signifikanten Unterschied gab. Andere Gründe hierfür könnten die geringe Anzahl und zu heterogene Auswahl an Seren sein. Es gilt zu überprüfen, ob andere Marker der Osteoklastogenese einen Einfluss haben.

Weiterhin ist zur Einteilung uni- und multifokal anzumerken, dass nur bei 44 % der Patienten eine Ganzkörper-MRT-Untersuchung bzw. eine Szintigraphie vorlag, die in einem Zeitraum von - /+ 30 Tagen hinsichtlich der Blutentnahme erfolgte. Wir wählten einen Zeitraum von - /+ 30 Tagen bei der Auswahl der Routine-MRT-Daten, um einen möglichst aktuellen Stand der Läsionen zu bekommen. Durch eine Ganzkörperbildgebung können akute, sowie okkulte Läsionen erkenntlich werden [55]. Somit lassen sich die Bilddaten einwandfrei in die Gruppen einteilen. Bei den anderen 56 % der Seren werteten wir die radiologische Routine-Bildgebung aus, die am nächsten zur getesteten Blutentnahme erfolgte. Nicht bei allen Patienten existierte eine Ganzkörperbildgebung. Dadurch können okkulte Läsionen übersehen werden. Durch das retrospektive Studiendesign und die geringe Anzahl an Patienten war es nicht möglich, nur Patienten mit Ganzkörperbildgebung in die Untersuchung aufzunehmen.

### **Vergleich der Knochenmarker von Patienten mit und ohne Hyperostose**

In beiden Gruppen gab es hinsichtlich der Z-OPG-Werte und DKK-1 im Serum keinen signifikanten Unterschied. Allerdings ist hier die Einteilung der Patienten zu kritisieren. Krankheitsverläufe bei NBO können Läsionen und zugleich Hyperostosen aufweisen. Das heißt die Osteoklastogenese verursacht die Läsionen und die Osteoblastogenese die Hyperostosen. Im Hinblick der ausgewählten Knochenmarker könnte hierdurch eine Balance zwischen den Markern für Knochenaufbau und –abbau bestehen und somit die Auswertung erschwert werden. In der Literatur gibt es keine gleichwertigen Studien zur NBO.

Allerdings gibt es die diffuse idiopathische Skeletthyperostose (DISH), die durch Knochenneubildung zwischen den Wirbelkörpern, Verknöcherungen von spinalen und extraspinalen Bändern charakterisiert ist. Die Studie von Senolt et al. untersuchte an 37 Patienten mit einer spinalen Beteiligung der Wirbelkörper bei DISH den Zusammenhang von DKK-1 im Serum mit dem Schweregrad der Wirbelkörperbeteiligung. Das durchschnittliche Alter der Patienten lag bei 63 Jahren. Sie fanden heraus, je mehr Wirbelkörper betroffen waren, desto niedriger war DKK-1. Insgesamt waren bei Patienten mit DISH die DKK-1-

Werte signifikant geringer im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe, was ein Hinweis auf Knochenneubildung sein könnte [113].

### **Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne axiale und mit axialer Beteiligung, ohne und mit Wirbelkörperbeteiligung**

Keine Signifikanz konnte zwischen den Gruppen bei Z-OPG-Werten und DKK-1 festgestellt werden.

Eine weitere Erkrankung aus dem rheumatischen Formenkreis, die mit einer axialen und spinalen Beteiligung charakterisiert ist, ist die Ankylosierende Spondylitis. Sie geht mit Knochenerosionen, sowie Knochenneubildung einher. Kwon et al. untersuchten bei adulten Patienten mit Ankylosierender Spondylitis OPG und DKK-1 im Serum. Die Patienten wiesen signifikant höhere OPG-Werte als die Kontrollprobanden auf, was somit ein Hinweis auf die Knochenneubildung sein kann. Bei DKK-1 zeigte sich ein signifikant geringerer Serumspiegel bei den Erkrankten im Vergleich zu den Gesunden. Die Forschergruppe konstatierte, dass initial nach dem destruktiven Entzündungsgeschehen DKK-1 durch den Wnt-Signalweg blockiert und die Knochenneubildung induziert wird. Auch bei der NBO könnte eine Inhibition des Wnt-Signalwegs vorliegen, welche zu niedrigen DKK-1 spiegeln führt. [89]

In unserer Untersuchung wiesen Patienten in den Gruppen mit axialem Befall/mit Wirbelkörperbeteiligung niedrigere Z-OPG-Werte und höhere DKK-1 Werte als Patienten mit nur peripherem Befall/kein Wirbelkörperbefall auf.

### **Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne und mit erhöhten Serum-TNF-alpha Werten**

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bei Z-OPG-Werten und DKK-1 im Serum festgestellt werden. TNF-alpha spielt bei rheumatischen Erkrankungen wie beispielsweise der juvenilen idiopathischen Arthritis, rheumatoiden Arthritis und der Psoriasis Arthritis eine Schlüsselrolle im Entzündungsprozess. Es induziert die Osteoklastogenese und bewirkt eine Destruktion des Knochens und der Gelenke. Bei diesen Erkrankungen können erhöhte TNF-alpha – Spiegel im Serum und in der Synovialflüssigkeit gemessen werden [115]. In unserer Untersuchung war TNF-alpha im Serum bei nur 20 % der Proben erhöht. Interessant wäre, TNF-alpha im entzündeten bioptischen Korrelat zu untersuchen. Eventuell würde man im Biopsat auf eine höhere Nachweisquote von TNF-alpha kommen, da sich die Entzündung direkt am Knochen abspielt. Es ist bekannt, dass TNF-alpha die Knochenresorption bei lokalen Entzündungsreaktionen direkt beeinflusst [116]. Es ist möglich, dass TNF-alpha eine beeinflussende Rolle bei der NBO einnimmt, da TNF-alpha-Inhibitoren bereits therapeutisch erfolgreich eingesetzt werden [63, 64, 68]. Auch weitere proinflammatorische Zytokine wie Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-6 und Interleukin-17 können



durch Osteoklastenaktivierung Knochenerosionen hervorrufen [117]. Diese Zytokine sollten in weiteren Untersuchungen im Serum von Patienten mit NBO bestimmt werden. Möglicherweise werden die Knochenläsionen durch die Zytokine getriggert.

### **Vergleich der Knochenmarker von Patienten ohne Therapieeskalation und mit Therapieeskalation im späteren Krankheitsverlauf**

Seren von Patienten, die im späteren Krankheitsverlauf ein Bisphosphonat oder einen TNF-alpha-Inhibitor bekamen, wiesen bereits zu Beginn signifikant höhere DKK-1-Werte auf im Vergleich zu Seren von Patienten, die im Beobachtungszeitraum unbehandelt blieben. Nach dem Konsensusstatement des 16. Wörlitzer Expertengesprächs im Jahre 2013 der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendrheumatologie werden Bisphosphonate in Stufe IV, TNF-alpha-Antagonisten in Stufe V eingesetzt. Da diese Arzneimittel vorwiegend bei therapierefraktären und destruierenden Verläufen, sowie bei Wirbelkörperbeteiligung verordnet werden [57], ist anzunehmen, dass bei diesen Patienten der Knochenstoffwechsel aktiver war als bei Patienten mit milderem Verlauf. Dies könnte sich in den höheren DKK-1-Werten im Serum widerspiegeln und auf einen progredienten Verlauf hinweisen. Auch bei anderen rheumatischen Erkrankungen wurde ein Zusammenhang zwischen der Schwere der Erkrankung und DKK-1 im Serum festgestellt. In Studien konnte herausgefunden werden, dass bei der rheumatoiden Arthritis erhöhte DKK-1-Werte im Serum mit der entzündlichen Aktivität und dem erosiven Verlauf korrelierten [118-120]. Auch beim Systemischen Lupus erythematoses konnten erhöhte DKK-1-Spiegel im Serum bei Präsenz einer erosiven Arthritis festgestellt werden im Vergleich zu Patienten mit nicht-erosivem Verlauf [121]. Patienten mit einer Therapie-Eskalation hatten doppelt so viele Knochenläsionen (4 vs. 2) und einen höheren Prozentsatz an Wirbelsäulenbeteiligung (46 % vs. 11 %). Somit lässt sich auch hier ein aggressiverer Verlauf im Vergleich zur unbehandelten Gruppe feststellen. Folglich könnten erhöhte DKK-1 Werte eventuell einen schwerwiegenden Krankheitsverlauf voraussagen und sich als prognostischer Marker als nützlich erweisen. Patienten könnten somit früher einer Therapie mit Bisphosphonaten zugeführt werden. Allerdings muss das in weiteren, prospektiven Studien mit einem größeren Patientenkollektiv belegt werden.

Keine Signifikanz konnte bei Z-OPG-Werten zwischen den Gruppen festgestellt werden. Ob der aggressivere Krankheitsverlauf einen Einfluss auf die Z-OPG-Werte im Serum hat, ist aufgrund der geringen und heterogenen Auswahl der Seren nicht zu beurteilen.

## 6. Zusammenfassung

Bei der Nichtbakteriellen Osteitis handelt es sich um eine inflammatorische Erkrankung des rheumatischen Formenkreises. Es ist bekannt, dass bei zahlreichen rheumatologischen Erkrankungen, wie beispielsweise bei der juvenilen idiopathischen Arthritis, der rheumatoiden Arthritis und der Ankylosierenden Spondylitis Störungen im Knochenmetabolismus auftreten können.

Das Ziel der Untersuchung war, ob bei der Nichtbakteriellen Osteitis (NBO) anhand von Knochenmarkern im Serum sich ein Ungleichgewicht des Knochenstoffwechsels widerspiegelt. Der Osteoklasteninhibitor Pamidronat wurde bereits erfolgreich bei NBO eingesetzt. Deshalb ist ein Mismatch in der Pathophysiologie der Osteoblasten und -klasten anzunehmen. Bis jetzt liegen uns diesbezüglich keine bekannten Studien vor. Als Marker des Knochenmetabolismus wählten wir Osteoprotegerin, die alkalische Phosphatase, Dickkopf-1 und Cathepsin K. In die Untersuchung wurden 55 Patienten mit einer Nichtbakteriellen Osteitis miteinbezogen.

Die Ergebnisse der Untersuchung spiegeln ein Mismatch im Knochenstoffwechsel bei NBO wieder. Alle Patienten wiesen eine verminderte Osteoklastenaktivität auf. Etwa die Hälfte der Patienten hatte ein normwertiges OPG, bei etwa 37 % der Patienten lag bezüglich eines erniedrigten OPG's und DKK-1's eine „Low turnover“- Knochenstoffwechselsituation und bei etwa 9 % der Patienten eine erhöhte Osteoblastenaktivität vor.

Lag eine unifokale Manifestation vor, war eine höhere Osteoblastenaktivität zu beobachten als bei multifokaler Manifestation.

DKK-1 im Serum könnte als prädiktiver Parameter für einen progredienten Verlauf sprechen. Patienten mit einem aggressiven Krankheitsverlauf zeigten eine höhere Osteoklastenaktivität, als Probanden mit einem milden Krankheitsverlauf.

Insgesamt wies die Alkalische Phosphatase normal niedrige Werte auf. Diese scheinen kongruent mit dem hypometabolen Knochenstoffwechsel zu sein. Dies ist wichtig zur Abgrenzung zur Hypophosphatasie.

Da Cathepsin K in nur einem der untersuchten Seren nachweisbar war, gehen wir bei dieser Untersuchung von einem analytischen Messfehler aus oder als Folge der relative alten Seren.

Um eine höhere Aussagekraft der Ergebnisse zu erzielen, sind weitere größere und prospektive Studien notwendig, um zu prüfen, ob OPG und DKK-1 relevante und nützliche Biomarker für die Nichtbakterielle Osteitiden darstellen.

## 7. Abkürzungsverzeichnis

µl Mikroliter

ANA **A**ntinukleäre **A**ntikörper

ANBO **A**kute **N**ichtbakterielle **O**steitis

AP **A**lkalische **P**hosphatase

BKS **B**lutkörperchensenkung

CD **C**luster of **d**ifferentiation

CNO **C**hronisch **n**ichtbakterielle **O**steitis

CRMO **C**hronisch **r**ekurrierende **m**ultifokale **O**steomyelitis

CRP **C** – reaktives **P**rotein

DIRA **D**eficiency of **IL**-1 **R**eceptor **A**ntagonist

DKK **D**ickkopf

DMARD **D**isease **m**odifying **a**nti **r**heumatic **d**rugs

DPD **D**esoxypyridinolin

Dr. **D**oktor

DRL Leukozyten Antigen

EDV **E**lektronische **D**aten**v**erarbeitung

ELISA **E**nzyme **L**inked **I**mmunosorbent **A**ssay

HLA **H**uman **L**eukocyte **A**ntigen

Ig **I**mmunglobulin

IL **I**nterleukin

IL1RN-Gen

kDA **K**ilodalton

LMU **L**udwig-**M**aximilians-**U**niversität

LRP lipoprotein receptor-related **p**rotein

M-CSF **M**acrophage **c**olony-**s**timulating **f**actor

Min **M**inuten

MRT **M**agnetresonanztomographie

MTX **M**ethotrexat

MW **M**ittelwert

N Größe der Grundgesamtheit

NBO **N**ichtbakterielle **O**steitis

NK **N**atürliche **K**iller

NSAR **N**icht**s**teroidale **A**ntirheumatika

NSAR **n**icht**s**teroidale **A**ntirheumatika

NTx N-terminal telopeptide = amino-terminal collagen crosslinks

OM **O**steomyelitis

PCR **P**olymerase **C**hain **R**eaction

PD **P**rivatdozentin

Pg **P**ikogramm

pH **p**otentia **H**ydrogenii

PPP **P**almo-**p**lantare **P**ustulose

Prof. **P**rofessor

RANK **R**eceptor **A**ctivator **n**uclear factor **k**appa-light-chain-enhancer

RANKL **R**eceptor **A**ctivator **n**uclear factor **k**appa-light-chain-enhancer **l**igand

RF **R**heumafaktor

SAA **S**erum **A**myloid **A**

SAPHO **S**ynovitis **A**kne **P**ustulosis **H**yperostose **O**steitis

SPSS **S**tatistical **P**ackage of the **S**ocial **S**ciences

Std.Abw./SD **S**tandard**a**bweichung

TNF **T**umornekrosefaktor

## 8. Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1</b> Einteilung der infektiösen Osteomyelitiden modifiziert nach der Leitlinie für Kinderchirurgie, modifiziert nach [11] .....	8
<b>Abbildung 2</b> Interaktionen des Knochenmetabolismus .....	23
<b>Abbildung 3</b> Verteilung des Alters bei weiblichen und männlichen Patienten .....	32
<b>Abbildung 4</b> Häufigkeit der Z-OPG-Werte .....	33
<b>Abbildung 5</b> Häufigkeit der AP .....	34
<b>Abbildung 6</b> Häufigkeit des DKK-1 .....	35
<b>Abbildung 7</b> Lokalisation der Herde in Bezug auf die Gesamtpatientenzahl und Häufigkeit bei unifokaler Manifestation .....	36
<b>Abbildung 8</b> Lokalisation der Herde in Bezug auf die Gesamtpatientenzahl und Häufigkeit bei multifokaler Manifestation .....	36
<b>Abbildung 9</b> Z-OPG-Werte bei unifokaler und multifokaler Manifestation.....	37
<b>Abbildung 10</b> DKK-1 bei unifokaler und multifokaler Manifestation .....	38
<b>Abbildung 11</b> Lokalisation und Häufigkeit der Hyperostosen .....	39
<b>Abbildung 12</b> Z-OPG-Werte bei nicht hyperostotischer und hyperostotischer Manifestation .....	40
<b>Abbildung 13</b> DKK-1 bei nicht hyperostotischer und hyperostotischer Manifestation .....	41
<b>Abbildung 14</b> Z-OPG-Werte bei nicht axialer und mit axialer Beteiligung.....	42
<b>Abbildung 15</b> DKK-1 bei nicht axialer und mit axialer Beteiligung .....	43
<b>Abbildung 16</b> Z-OPG-Werte bei keiner und mit Wirbelkörperbeteiligung.....	44
<b>Abbildung 17</b> DKK-1 mit und ohne Wirbelkörperbeteiligung .....	45
<b>Abbildung 18</b> Z-OPG-Werte bei normwertigem und erhöhtem TNF-alpha .....	46
<b>Abbildung 19</b> DKK-1 bei normwertigem und erhöhtem TNF-alpha.....	47
<b>Abbildung 20</b> Z-OPG-Werte bei Patienten ohne und mit Therapieeskalation im späteren Krankheitsverlauf.....	49
<b>Abbildung 21</b> DKK-1 bei Patienten ohne und mit Therapieeskalation im späteren Krankheitsverlauf.....	50

## 9. Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b> Verlaufsformen der Nichtbakteriellen Osteitis.....	10
<b>Tabelle 2</b> Diagnosescore, Haupt- und Nebenkriterien der NBO .....	14
<b>Tabelle 3</b> Klinischer Diagnosescore .....	15
<b>Tabelle 4</b> Faktoren, die den Knochenmetabolismus beeinflussen .....	20
<b>Tabelle 5</b> Charakteristika der verwendeten Antikörper zur Bestimmung von OPG, DKK-1, Cathepsin K.....	27
<b>Tabelle 6</b> Referenzbereiche BKS, CRP, TNF-alpha, AP .....	31

## 10. Literaturverzeichnis

1. Jansson, A., et al., *Nicht-bakterielle Osteitis des Kindes- und Erwachsenenalters*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2006. 154(8): p. 831-834.
2. Wagner, N. and G. Dannecker, *Pädiatrische Rheumatologie*. 1 ed. 2007, Heidelberg: Springer. 494-497.
3. Giedion, A., et al., [*Subacute and chronic "symmetrical" osteomyelitis*]. Ann Radiol (Paris), 1972. 15(3): p. 329-42.
4. Probst, F.P., B. Bjorksten, and K.H. Gustavson, *Radiological aspect of chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. Ann Radiol (Paris), 1978. 21(2-3): p. 115-25.
5. Ferguson, P.J. and M. Sandu, *Current understanding of the pathogenesis and management of chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. Curr Rheumatol Rep, 2012. 14(2): p. 130-41.
6. Jurik, A.G. and B.N. Moller, *Chronic sclerosing osteomyelitis of the clavicle. A manifestation of chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. Arch Orthop Trauma Surg, 1987. 106(3): p. 144-51.
7. Schmitt, H.-J. and M. Knuf, *Osteomyelitis*, in *Pädiatrie Grundlagen und Praxis*, M.J. Lentze, Editor. 2007, Springer: Heidelberg. p. 1674-1678.
8. Jansson, A.F., *Nichtbakterielle Osteitiden als Autoinflammations-Erkrankungen: Krankheitsspektren vom Symptom bis zum Syndrom*. Akt Rheumatol, 2011. 36(EFirst): p. 252-260.
9. Tiemann, A.H., et al., *Infektiöse Knochenerkrankungen*. Der Pathologe, 2011. 32(3): p. 200-209.
10. Kliegman, R.M., et al. 19 ed. Nelson Textbook of Pediatrics. 2011, Philadelphia: Elsevier Saunders. p. 2394-2398.
11. Kinderchirurgie, L.d.D.G.f. *Osteomyelitis*. 2002; Available from: [www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/006-079.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/006-079.pdf), [abgerufen am 10.04.2013].
12. Henne Bruns, D., M. Dürig, and B. Kremer, *Duale Reihe Chirurgie*. 3 ed. 2008, Stuttgart: Georg Thieme Verlag. p. 731-905.
13. Chiu, C.K. and V.A. Singh, *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis of the first metatarsal bone: a case report*. J Orthop Surg (Hong Kong), 2009. 17(1): p. 119-22.
14. Jansson, A.F., *Nichtbakterielle Osteitis*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2009. 157(7): p. 664-669.
15. Girschick, H.J., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: what is it and how should it be treated?* Nat Clin Pract Rheumatol, 2007. 3(12): p. 733-8.
16. Schrod, K., et al., *Schnitzler's disease as an important differential diagnosis of chronic recurrent multifocal osteomyelitis: a case report*. Case Report Rheumatol, 2012. 2012: p. 318791.
17. Schilling, F., *Chronic Recurrent Multifocal Osteomyelitis*. Dtsch Arztebl International, 2010. 107(9): p. 148-.
18. Robertson, L.P. and P. Hickling, *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis is a differential diagnosis of juvenile idiopathic arthritis*. Ann Rheum Dis, 2001. 60(9): p. 828-31.
19. Bijlsma, J.W., et al., *Textbook on Rheumatic Diseases*. 1 ed. Textbook on Rheumatic Diseases, ed. B.J. WJ. 2012, United Kingdom: European League Against Rheumatism, BMJ Group. p. 372-389.
20. Khanna, G., T.S. Sato, and P. Ferguson, *Imaging of chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. Radiographics, 2009. 29(4): p. 1159-77.
21. Jansson, A.F., V. Grote, and E.S. Group, *Nonbacterial osteitis in children: data of a German Incidence Surveillance Study*. Acta Paediatr, 2011. 100(8): p. 1150-7.
22. Manager, B. and H. Schulze-Koops, *Checkliste Rheumatologie* 4ed. 2012, Stuttgart: Thieme. p. 426.
23. Rack, A.L., I. Schmid, and A.F. Jansson, *Knochenschmerzen im Kindes- und Jugendalter*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2011. 159(12): p. 1247-1256.

24. PRINTO. *Chronic non bacterial osteomyelitis/osteitis*. Available from: [https://www.printo.it/pediatric-rheumatology/IE/info/18/Chronische-nicht-bakterielle-osteomyelitis-osteitis-\(oder-CRMO\)](https://www.printo.it/pediatric-rheumatology/IE/info/18/Chronische-nicht-bakterielle-osteomyelitis-osteitis-(oder-CRMO)), [abgerufen am 30.06.18].
25. Chun, C.S., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis of the spine and mandible: case report and review of the literature*. Pediatrics, 2004. 113(4): p. e380-4.
26. Jansson, A., et al., *Classification of non-bacterial osteitis: retrospective study of clinical, immunological and genetic aspects in 89 patients*. Rheumatology (Oxford), 2007. 46(1): p. 154-60.
27. Girschick, H.J., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis in children: diagnostic value of histopathology and microbial testing*. Hum Pathol, 1999. 30(1): p. 59-65.
28. Schilling, F. *Orphanet Enzyklopädie*. SAPHO-Syndrom 2006; Available from: <https://www.orpha.net/data/patho/DE/de-sapho.pdf>, [abgerufen am 04.08.18].
29. Karaca, N., et al., *Granulomatous pyoderma preceding chronic recurrent multifocal osteomyelitis triggered by vaccinations in a two-year-old boy: a case report*. J Med Case Rep, 2010. 4: p. 325.
30. Petty, R.E., et al., *Textbook of pediatric rheumatology*. 6. ed. ed. 2011, Philadelphia, Pa. [u.a.]: Saunders Elsevier. p. 661 - 668.
31. Byrd, L., et al., *Chronic multifocal osteomyelitis, a new recessive mutation on chromosome 18 of the mouse*. Genomics, 1991. 11(4): p. 794-8.
32. Golla, A., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO): evidence for a susceptibility gene located on chromosome 18q21.3-18q22*. Eur J Hum Genet, 2002. 10(3): p. 217-21.
33. Jansson, A., et al., *Nichtbakterielle Osteitiden: Akne und andere Hautmanifestationen*, in *Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie*, G. Plewig, P. Kaudewitz, and C. Sander, Editors. 2005, Springer Berlin Heidelberg. p. 259-268.
34. Beck, C., et al., *Chronic nonbacterial osteomyelitis in childhood: prospective follow-up during the first year of anti-inflammatory treatment*. Arthritis Res Ther, 2010. 12(2): p. R74.
35. Twilt, M. and R.M. Laxer, *Clinical care of children with sterile bone inflammation*. Curr Opin Rheumatol, 2011. 23(5): p. 424-31.
36. Jansson, A., et al., *Die chronisch rezidivierende multifokale Osteomyelitis (CRMO) Übersicht und erste Befunde einer genetisch-rheumatologischen Studie*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2002. 150(4): p. 477-489.
37. Reinhardt, D., *Therapie der Krankheiten im Kindes- und Jugendalter*. 8., vollst. bearb. Aufl. ed. 2007, Heidelberg: Springer. XXI, p. 2146.
38. Huber, A.M., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: clinical outcomes after more than five years of follow-up*. J Pediatr, 2002. 141(2): p. 198-203.
39. Majeed, H.A., et al., *Congenital dyserythropoietic anemia and chronic recurrent multifocal osteomyelitis in three related children and the association with Sweet syndrome in two siblings*. J Pediatr, 1989. 115(5 Pt 1): p. 730-4.
40. Morbach, H., et al., *Association of chronic non-bacterial osteomyelitis with Crohn's disease but not with CARD15 gene variants*. Rheumatol Int, 2010. 30(5): p. 617-21.
41. Kim, Y.S., J. Lee, and H.S. Kim, *Sternocostal involvement in chronic recurrent multifocal osteomyelitis associated with ulcerative colitis*. Rheumatol Int, 2012. Volume 33(11): p. 2889-2892.
42. Kerem, E., et al., *Pulmonary association in a case of chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. Pediatr Pulmonol, 1989. 7(1): p. 55-8.
43. Tsitsami, E., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis with concomitant features of juvenile idiopathic arthritis*. Case Report Rheumatol, 2011. 2011: p. 210795.
44. Rech, J., et al., *Adult-onset Still's disease and chronic recurrent multifocal osteomyelitis: a hitherto undescribed manifestation of autoinflammation*. Rheumatol Int, 2012. 32(6): p. 1827-9.



45. Shimizu, M., et al., *Colchicine-responsive chronic recurrent multifocal osteomyelitis with MEFV mutations: a variant of familial Mediterranean fever?* Rheumatology (Oxford), 2010. 49(11): p. 2221-3.
46. Borzutzky, A., et al., *Pediatric chronic nonbacterial osteomyelitis*. Pediatrics, 2012. 130(5): p. e1190-7.
47. Falip, C., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO): a longitudinal case series review*. Pediatr Radiol, 2012.
48. Baulot, E., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis causing spinal cord compression*. European Spine Journal, 1998. 7(4): p. 340-343.
49. Duffy, C.M., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: review of orthopaedic complications at maturity*. J Pediatr Orthop, 2002. 22(4): p. 501-5.
50. Jansson, A., V. Jansson, and A. Liebe, *Die kindliche Osteomyelitis*. Der Orthopäde, 2009. 38(3): p. 283-294.
51. Girschick, H.J., et al., *Chronic non-bacterial osteomyelitis in children*. Ann Rheum Dis, 2005. 64(2): p. 279-85.
52. Fritz, J., et al., *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: comparison of whole-body MR imaging with radiography and correlation with clinical and laboratory data*. Radiology, 2009. 252(3): p. 842-51.
53. Jansson, A.F., et al., *Clinical score for nonbacterial osteitis in children and adults*. Arthritis Rheum, 2009. 60(4): p. 1152-9.
54. Björkstén, B. and L. Boquist, *Histopathological aspects of chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. J Bone Joint Surg Br, 1980. 62(3): p. 376-80.
55. Haydar, A.A., P. Gikas, and A. Saifuddin, *Case report: Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: a case report and role of whole-body MRI*. Clin Radiol, 2009. 64(6): p. 641-4.
56. Mandell, G.A., et al., *Bone scintigraphy in the detection of chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. J Nucl Med, 1998. 39(10): p. 1778-83.
57. Jansson, A.F., et al., *Diagnostik und Therapie der nichtbakteriellen Osteitis*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2014. 162(6): p. 539-545.
58. Abril, J.C. and A. Ramirez, *Successful treatment of chronic recurrent multifocal osteomyelitis with indomethacin: a preliminary report of five cases*. J Pediatr Orthop, 2007. 27(5): p. 587-91.
59. Holden, W. and J. David, *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis: two cases of sacral disease responsive to corticosteroids*. Clin Infect Dis, 2005. 40(4): p. 616-9.
60. Morbach, H., M. Stenzel, and H.J. Girschick, *Bisphosphonate treatment for patients with chronic nonbacterial osteomyelitis*. Nat Clin Pract Rheum, 2008. 4(11): p. 570-571.
61. Simm, P.J., R.C. Allen, and M.R. Zacharin, *Bisphosphonate treatment in chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. J Pediatr, 2008. 152(4): p. 571-5.
62. Gleeson, H., et al., *Childhood chronic recurrent multifocal osteomyelitis: pamidronate therapy decreases pain and improves vertebral shape*. J Rheumatol, 2008. 35(4): p. 707-12.
63. Eleftheriou, D., et al., *Biologic therapy in refractory chronic non-bacterial osteomyelitis of childhood*. Rheumatology (Oxford), 2010. 49(8): p. 1505-12.
64. Marangoni, R.G. and A.S. Halpern, *Chronic recurrent multifocal osteomyelitis primarily affecting the spine treated with anti-TNF therapy*. Spine (Phila Pa 1976), 2010. 35(7): p. E253-6.
65. Schilling, F. and A.D. Wagner, *Azithromycin: Eine anti-entzündliche Wirksamkeit im Einsatz bei der chronischen rekurrenden multifokalen Osteomyelitis? Eine vorläufige Mitteilung*. Zeitschrift für Rheumatologie, 2000. 59(5): p. 352-353.
66. Assmann, G., et al., *Efficacy of antibiotic therapy for SAPHO syndrome is lost after its discontinuation: an interventional study*. Arthritis Res Ther, 2009. 11(5): p. R140.
67. Gallagher, K.T., et al., *Treatment of chronic recurrent multifocal osteomyelitis with interferon gamma*. J Pediatr, 1997. 131(3): p. 470-2.
68. Eisenstein, E.M., et al., *Combination therapy with methotrexate and etanercept for refractory chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. J Rheumatol, 2011. 38(4): p. 782-3.

69. Reinehr, T., et al., *Chronic osteomyelitis in childhood: is surgery always indicated?* Infection, 2000. 28(5): p. 282-6.
70. Carr, A., et al., *Chronic multifocal osteomyelitis*. Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume, 1993. 75-B(4): p. 582-591.
71. Catalano-Pons, C., et al., *Clinical outcome in children with chronic recurrent multifocal osteomyelitis*. Rheumatology (Oxford), 2008. 47(9): p. 1397-9.
72. Fauci, A.S., et al., *Harrison's principles of internal medicine*. 17. ed. ed. 2008, New York [u.a.]: McGraw-Hill. p. 2365 - 2368.
73. Hofbauer, L.C., C.A. Kuhne, and V. Viereck, *The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases*. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2004. 4(3): p. 268-75.
74. Neumann, E., *Neue pathophysiologische Stoffwechselwege in der Osteoporose*. Zeitschrift für Rheumatologie, 2006. 65(5): p. 400-406.
75. Karow, T. and R. Lang-Roth, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden für Studium und Praxis*, 2011. 19. Aufl. ed. 2011, Pulheim: Karow. p. 698.
76. Simonet, W.S., et al., *Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density*. Cell, 1997. 89(2): p. 309-19.
77. Tsuda, E., et al., *Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis*. Biochem Biophys Res Commun, 1997. 234(1): p. 137-42.
78. Kwon, B.S., et al., *TR1, a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, induces fibroblast proliferation and inhibits osteoclastogenesis and bone resorption*. FASEB J, 1998. 12(10): p. 845-54.
79. Yun, T.J., et al., *OPG/FDCR-1, a TNF receptor family member, is expressed in lymphoid cells and is up-regulated by ligating CD40*. J Immunol, 1998. 161(11): p. 6113-21.
80. *Proposed standard nomenclature for new tumor necrosis factor family members involved in the regulation of bone resorption. The American Society for Bone and Mineral Research President's Committee on Nomenclature*. J Bone Miner Res, 2000. 15(12): p. 2293-6.
81. Hilton, M.J., et al., *An integrated physical map of 8q22-q24: use in positional cloning and deletion analysis of Langer-Giedion syndrome*. Genomics, 2001. 71(2): p. 192-9.
82. Neve, A., A. Corrado, and F. Cantatore, *Osteoblast physiology in normal and pathological conditions*. Cell and Tissue Research, 2011. 343(2): p. 289-302.
83. Lamoureux, F., et al., *Regulation of osteoprotegerin pro- or anti-tumoral activity by bone tumor microenvironment*. Biochim Biophys Acta, 2010. 1805(1): p. 17-24.
84. Tomoyasu, A., et al., *Characterization of monomeric and homodimeric forms of osteoclastogenesis inhibitory factor*. Biochem Biophys Res Commun, 1998. 245(2): p. 382-7.
85. Merewether, L.A., et al., *Development of disulfide peptide mapping and determination of disulfide structure of recombinant human osteoprotegerin chimera produced in Escherichia coli*. Arch Biochem Biophys, 2000. 375(1): p. 101-10.
86. Aubin, J.E. and E. Bonnellye, *Osteoprotegerin and its Ligand: A New Paradigm for Regulation of Osteoclastogenesis and Bone Resorption*. Osteoporosis International, 2000. 11(11): p. 905-913.
87. Kwon, S.R., et al., *Dickkopf-1 level is lower in patients with ankylosing spondylitis than in healthy people and is not influenced by anti-tumor necrosis factor therapy*. Rheumatol Int, 2012. 32(8): p. 2523-7.
88. Lien, G., et al., *Serum levels of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor - kappaB ligand in children with early juvenile idiopathic arthritis: a 2-year prospective controlled study*. Pediatr Rheumatol Online J, 2010. 8: p. 30.
89. Spelling, P., et al., *Osteoprotegerin/RANKL system imbalance in active polyarticular-onset juvenile idiopathic arthritis: a bone damage biomarker?* Scand J Rheumatol, 2008. 37(6): p. 439-44.
90. Gressner, A.M. and T. Arndt, *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2., überarb. und erw. Aufl. ed. 2013, Berlin [u.a.]: Springer. 769, 1030, 1066-1068.

91. Mao, B., et al., *Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/beta-catenin signalling*. Nature, 2002. 417(6889): p. 664-7.
92. Niehrs, C., *Function and biological roles of the Dickkopf family of Wnt modulators*. Oncogene, 2006. 25(57): p. 7469-81.
93. Diarra, D., et al., *Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling*. Nat Med, 2007. 13(2): p. 156-63.
94. Bao, J., J.J. Zheng, and D. Wu, *The structural basis of DKK-mediated inhibition of Wnt/LRP signaling*. Sci Signal, 2012. 5(224): p. pe22.
95. Lecaillon, F., D. Bromme, and G. Lalmanach, *Biochemical properties and regulation of cathepsin K activity*. Biochimie, 2008. 90(2): p. 208-26.
96. Costa, A.G., et al., *Cathepsin K: its skeletal actions and role as a therapeutic target in osteoporosis*. Nat Rev Rheumatol, 2011. 7(8): p. 447-456.
97. Brabnikova-Maresova, K., et al., *Serum sclerostin in high-activity adult patients with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Res Ther, 2014. 16(5): p. 460.
98. Rossini, M., et al., *In patients with rheumatoid arthritis, Dickkopf-1 serum levels are correlated with parathyroid hormone, bone erosions and bone mineral density*. Clin Exp Rheumatol, 2014. 33(1): p. 77 - 83.
99. Pathak, J.L., et al., *Inflammatory factors in the circulation of patients with active rheumatoid arthritis stimulate osteoclastogenesis via endogenous cytokine production by osteoblasts*. Osteoporos Int, 2014. 25(10): p. 2453-63.
100. Yucong, Z., et al., *Serum functional dickkopf-1 levels are inversely correlated with radiographic severity of ankylosing spondylitis*. Clin Lab, 2014. 60(9): p. 1527-31.
101. Solau-Gervais, E., et al., *The usefulness of bone remodelling markers in predicting the efficacy of pamidronate treatment in SAPHO syndrome*. Rheumatology (Oxford), 2006. 45(3): p. 339-42.
102. Wendlova, J., S. Galbavy, and J. Paukovic, *[Paget's disease of bone--treatment with alendronate, calcium and calcitriol]*. Vnitr Lek, 1999. 45(10): p. 602-5.
103. Berg, J.M., J.L. Tymoczko, and L. Stryer, *Biochemistry*. Internat. 7. ed. ed. 2012, New York: Freeman [u.a.]. p. 90 - 91.
104. Gajewska, J., J. Ambroszkiewicz, and T. Laskowska-Klita, *Osteoprotegerin and C-telopeptide of type I collagen in Polish healthy children and adolescents*. Adv Med Sci, 2006. 51: p. 269-72.
105. Brunetti, G., et al., *High dickkopf-1 levels in sera and leukocytes from children with 21-hydroxylase deficiency on chronic glucocorticoid treatment*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2013. 304(5): p. E546-54.
106. Weiß, C., *Basiswissen medizinische Statistik*. 4., überarb. Aufl. ed. 2008, Heidelberg: Springer. p. 208.
107. Buzi, F., et al., *Serum osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factors  $\kappa$ B (RANKL) concentrations in normal children and in children with pubertal precocity, Turner's syndrome and rheumatoid arthritis*. Clin Endocrinol (Oxf), 2004. 60(1): p. 87-91.
108. Boyce, B.F. and L. Xing, *Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin*. Arthritis Res Ther, 2007. 9 Suppl 1: p. S1.
109. Whyte, M.P., et al., *Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease*. N Engl J Med, 2002. 347(3): p. 175-84.
110. Neumann, E., U. Müller-Ladner, and K.W. Frommer, *Entzündung und Knochenmetabolismus*. Zeitschrift für Rheumatologie, 2014. 73(4): p. 342-348.
111. Mehl, B., et al., *Korrelieren biochemische Knochenstoffwechselmarker mit einer histologisch gesicherten High- bzw. Low-Turnover-Osteoporose?* Medizinische Klinik, 2002. 97(10): p. 588-594.
112. Ameri, A., *Schwere Osteoporose: Teriparatid steigert Knochenneubildung*. Orthopädie & Rheuma, 2012. 15(3): p. 83-83.
113. Senolt, L., et al., *Low circulating Dickkopf-1 and its link with severity of spinal involvement in diffuse idiopathic skeletal hyperostosis*. Ann Rheum Dis, 2012. 71(1): p. 71-4.

114. Kaiser, M., et al., *Serum concentrations of DKK-1 correlate with the extent of bone disease in patients with multiple myeloma*. Eur J Haematol, 2008. 80(6): p. 490-4.
115. Kitaura, H., et al., *Immunological reaction in TNF-alpha-mediated osteoclast formation and bone resorption in vitro and in vivo*. Clin Dev Immunol, 2013. 2013: p. 181849.
116. Boyce, B.F., et al., *TNF-alpha and pathologic bone resorption*. Keio J Med, 2005. 54(3): p. 127-31.
117. Sonomoto, K., et al., *Interleukin-1beta induces differentiation of human mesenchymal stem cells into osteoblasts via the Wnt-5a/receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2 pathway*. Arthritis Rheum, 2012. 64(10): p. 3355-63.
118. Wang, S.Y., et al., *Circulating Dickkopf-1 is correlated with bone erosion and inflammation in rheumatoid arthritis*. J Rheumatol, 2011. 38(5): p. 821-7.
119. Liu, Y.Y., et al., *Circulating Dickkopf-1 and osteoprotegerin in patients with early and longstanding rheumatoid arthritis*. Chin Med J (Engl), 2010. 123(11): p. 1407-12.
120. Garnero, P., N.C. Tabassi, and N. Voorzanger-Rousselot, *Circulating dickkopf-1 and radiological progression in patients with early rheumatoid arthritis treated with etanercept*. J Rheumatol, 2008. 35(12): p. 2313-5.
121. Long, L., et al., *Dickkopf-1 as potential biomarker to evaluate bone erosion in systemic lupus erythematosus*. J Clin Immunol, 2010. 30(5): p. 669-75.

## 11. Anhang Tabellen

### Vergleich der Knochenmarker bei uni- und multifokaler Manifestation

Deskriptive Statistik

		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
Z-OPG-Werte	Gruppen									
	unifokal	-,5320	-1,4160	,3520	-,6429	3,568	1,88881	-3,96	2,72	6,67
	multifokal	-1,5311	-2,1386	-,9237	-1,7612	3,031	1,74087	-4,30	3,50	7,80

Deskriptive Statistik

		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
Gruppen		626,3715	515,742072	737,000928	556,3900	55875,689	236,3803902	321,2200	1112,7800	791,5600
		626,0431	535,580525	716,505761	585,0700	69351,272	263,3462973	68,8300	1399,5800	1330,7500

Z-OPG-Werte	< 2	-2 bis +2	>2
Anzahl der Patienten	37 % (20)	54 % (29)	9 % (5)
Alter Erstmanifestation in Jahren Median/MW	11/11	10/11	12/12
Erkrankungsdauer in Monaten Median/MW	22/25	27/45	42/41
Anzahl Patienten mit unifokaler/multifokaler Manifestation	5/12	12/17	3/2
Anzahl Patienten mit unifokaler/multifokaler Manifestation in %	25 % / 75 %	41 % / 59 %	60 % / 40 %
Anzahl Läsionen Median/MW	2/4	2/3	1/2
Hyperostosen	35 % (7)	41 % (12)	0 % (0)
Humoral aktiv	50 % (10)	57 % (16)	60 % (3)
Klinisch aktiv	45 % (9)	28 % (8)	20 %

DKK-1 – Wert	untere 10 %	mittlerer Bereich 80 %	obere 10 %
Anzahl der Patienten	6	43	6
Geschlecht w/m	3/3	34/9	5/1
Alter Erstmanifestation in Jahren Median/MW	11/11	11/11	10/10
Erkrankungsdauer in Monaten Median/MW	38/40	26/38	15/23
Anzahl Patienten mit unifokaler/multifokaler Manifestation	3/3	14/29	3/3
Anzahl Patienten mit unifokaler/multifokaler Manifestation in %	50 % / 50 %	33 % / 67 %	50 % / 50 %
Anzahl Läsionen Median/MW	2/2	2/4	2/4
Hyperostosen	17 % (1)	37 % (16)	33 % (2)
Humoral aktiv	50 % (3)	53 % (23)	50 % (3)
Klinisch aktiv	17 % (1)	37 % (16)	17 % (1)

## Vergleich der Knochenmarker mit Hyperostose

Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
Z-OPG-Werte	keine Hyperostose	-1,1221	-1,8148	-,4294	-1,7612	4,066	2,01648	-4,30	3,50	7,80
	Hyperostose vorhanden	-1,2329	-1,9689	-,4970	-1,3134	2,331	1,52687	-3,96	1,36	5,32

Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
DKK-1 pg/ml	keine Hyperostose	618,2136	524,064300	712,362922	539,1800	77428,089	278,2590318	68,8300	1399,5800	1330,7500
	Hyperostose vorhanden	641,2237	545,970570	736,476798	585,0700	89056,390	197,6268947	378,5800	1101,3100	722,7300

## Vergleich der Knochenmarker mit TNF-alpha

Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
Z-OPG-Werte	normwertig	-1,1306	-1,7046	-,5567	-1,5000	3,478	1,86495	-4,30	3,50	7,80
	erhöht	-1,0125	-2,2331	,2082	-1,3385	2,912	1,70633	-3,40	1,36	4,76

Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
DKK-1 pg/ml	normwertig	632,8277	561,385276	704,270073	573,6000	53889,359	232,1408166	137,6600	1181,6200	1043,9600
	erhöht	603,8436	376,304414	831,382859	493,3000	114715,1	338,6962289	68,8300	1399,5800	1330,7500

## Vergleich der Knochenmarker mit axialer vs. peripheren Läsionen

Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
Z-OPG-Werte	keine axiale Beteiligung	-1,1392	-1,8366	-,4419	-1,4627	3,868	1,96660	-4,30	2,72	7,01
	axiale Beteiligung	-1,1954	-1,9610	-,4299	-1,6491	2,828	1,68174	-3,40	3,50	6,90

Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
DKK-1 pg/ml	keine axiale Beteiligung	592,7197	513,530609	671,908785	527,7100	49875,927	223,3291903	137,6600	1112,7800	975,1200
	axiale Beteiligung	676,3268	549,021733	803,631903	613,7500	2442,050	287,1272372	68,8300	399,5800	1330,7500

## Vergleich der Knochenmarker mit Wirbelkörperläsionen

Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
Z-OPG-Werte	kein Wirbelkörperbefall	-1,0112	-1,5978	-,4246	-1,3134	3,813	1,95260	-4,30	3,50	7,80
	Wirbelkörperbefall	-1,9105	-2,6058	-1,2153	-1,8750	,818	,90447	-3,40	-,56	2,84

### Deskriptive Statistik

		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
Gruppen		Mittelwert	Untergrenze	Obergrenze	Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
DKK-1 pg/ml	kein Wirbelkörperbefall	621,2722	541,161174	701,383270	539,1800	71103,144	266,6517286	68,8300	1399,5800	1330,7500
	Wirbelkörperbefall	648,1690	520,842316	775,495684	653,9050	31680,593	177,9904306	378,5800	917,7600	539,1800

## Vergleich der Knochenmarker mit Patienten, die zu einem späteren Zeitpunkt Pamidronat oder ein Biologikum erhielten

### Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
Z-OPG-Werte	kein Pamidronat/Biologikum	-1,1097	-1,6897	-,5296	-1,3134	3,377	1,83762	-4,30	2,72	7,01
	im Verlauf Pamidronat/Biologikum	-1,3233	-2,4914	-,1552	-1,8750	3,737	1,93307	-3,40	3,50	6,90

### Deskriptive Statistik

Gruppen		Statistik								
		Mittelwert	95% Konfidenzintervall des Mittelwerts		Median	Varianz	Standardabweichung	Minimum	Maximum	Spannweite
			Untergrenze	Obergrenze						
DKK-1 pg/ml	kein Pamidronat/Biologikum	589,1688	515,621062	662,716557	527,7100	55703,529	236,0159497	68,8300	1399,5800	1330,7500
	im Verlauf Pamidronat/Biologikum	745,6808	580,873544	910,487994	825,9800	74379,970	272,7269149	137,6600	1181,6200	1043,9600

## **12. Teilaspekte der Dissertation wurden bereits in Abstracts bzw. Postern publiziert**

04.09.15	Posterpräsentation  Nichtbakterielle Osteitis: Gibt es ein Mismatch in der Pathophysiologie der Osteoblasten oder Osteoklasten?  43. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie, Bremen
28.06.15	Posterpräsentation  Nonbacterial osteitis: Is there any mismatch in the pathophysiology of osteoblasts or osteoclasts?  Bone Abstracts (2015) 4 P79   DOI:10.1530/boneabs.4.P79  7th International Conference on Children's Bone Health, Salzburg, Österreich



### **13. Danksagung**

Mein herzlicher Dank gilt Frau PD Dr. med. Annette Jansson für die Überlassung des Themas, die umfassende und hilfsbereite Betreuung, sowie die fortwährende und persönliche Unterstützung.

Des Weiteren bedanke ich mich herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Bechtold-Dalla Pozza für die freundliche und kompetente Betreuung.

Auch möchte ich mich bei Frau Dr. med. Susanne Schalm bedanken, die immer ein offenes Ohr für meine Fragen hatte und sich überaus hilfsbereit zeigte.

Zudem danke ich Frau Isabella Susanne Gesell für die statistische Unterstützung und Beratung.

Den Eltern, deren Kinder und allen anderen Patienten, die an der Studie teilgenommen haben, danke ich ebenfalls.

Mein Dank geht ebenso an das Team des endokrinologischen und immunologischen Labors.